

UNIVERSITY OF TORONTO LIBRARY
 groningen
 1957

DE ZIEKTE VAN BESNIER-BOECK
EN TUBERCULOSE

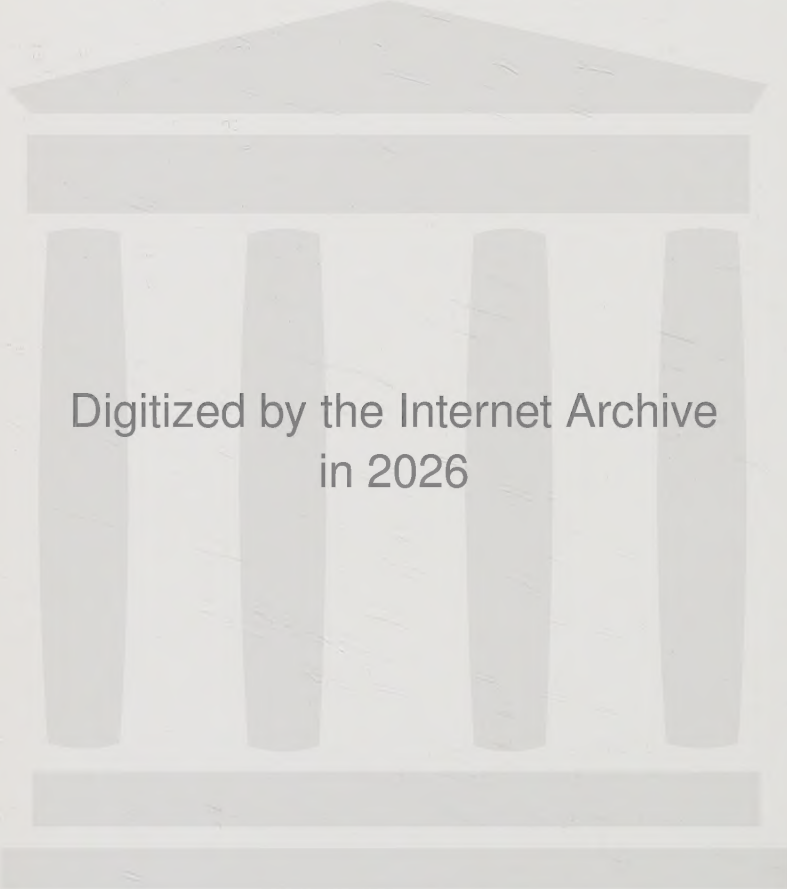
OVER ENKELE HUID- EN SERUM-REACTIES

P. M. BEAUMONT

STELLINGEN

1. Het neutraliserend effect op tuberculine van serum van normale personen en patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck of welke aandoening dan ook, zou kunnen berusten op een versnelde afvoer van het tuberculine.
2. Wanneer de patiënt lijdende aan de ziekte van Besnier-Boeck een defect zou vertonen in de ontwikkeling van een „vertraagde allergische“ reactie zoals Israël et.al. menen te hebben aangetoond, dan is:
 - a. hierin de verklaring te vinden voor het uitblijven van de tuberculine-gevoeligheid na BCG-vaccinatie.
 - b. de tuberculine-ongevoeligheid na de BCG-vaccinatie geen argument voor een tuberculeuze aetiologie van de ziekte van Besnier-Boeck.
3. Een positieve Kveim-test is een belangrijke steun bij het stellen van de diagnose ziekte van Besnier-Boeck.
Vele moeilijkheden zijn evenwel verbonden aan het bereiden van een actieve weefsel-suspensie benodigd voor het verrichten van deze test.
4. Het verdient aanbeveling ondervoedingstoestanden na totale maag-resectie te voorkomen met een calorieënrijk dieet ondersteund door nor-androstenolonphenylpropionaat (duraboline).
5. De indicatie voor sectio caesarea moet ruimer gesteld worden dan tot nog toe gebruikelijk was.
6. Op anatomisch-physiologische gronden wordt de serie phlebographie van de onderste extremiteiten in verticale houding aanbevolen, indien phlebographisch onderzoek gewenst is.

de Reus H. D.
N. T. v. Gen. 1957, blz. 996
7. Een groot deel der pilonidal cysten is niet van congenitale oorsprong.
8. Het is gewenst bij praematuren in de eerste levensweken het bilirubine-gehalte van het bloed te vervolgen.
Deze bepaling dient met behulp van een microtechniek te geschieden.
9. Het is niet verantwoord een patiënt met een chronische anaemie, niet door ijzergebrek veroorzaakt, parenteraal ijzer toe te dienen.
10. De ictuscurve geeft belangrijke aanwijzingen voor de ernst van de mitralisstenose.
11. Vooral in de gemeenschap van hen die werkzaam zijn in een ziekenhuis, dienen goede onderling menselijke verhoudingen te bestaan.
Het is mede de taak van elk lid van deze gemeenschap om de goede betrekkingen in stand te houden en zonodig te verbeteren.
12. Alvorens men een patiënt uit het ziekenhuis ontslaat, dient men zich te vergewissen of de voorgestelde therapeutische maatregelen, in zijn eigen milieu kunnen worden opgevolgd.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40154010_0059

DE ZIEKTE VAN BESNIER-BOECK
EN TUBERCULOSE

OVER ENKELE HUID- EN SERUM-REACTIES

RIJKSUNIVERSITEIT GRONINGEN

DE ZIEKTE VAN BESNIER-BOECK EN TUBERCULOSE

OVER ENKELE HUID- EN SERUMREACTIES

PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DE GRAAD
VAN DOCTOR IN DE GENEESKUNDE
AAN DE RIJKSUNIVERSITEIT TE GRONINGEN
OP GEZAG VAN DE RECTOR MAGNIFICUS
DR. J. ARIËNS KAPPERS
HOOGLERAAR IN DE FACULTEIT DER GENEESKUNDE
TEGEN DE BEDENKINGEN VAN DE
FACULTEIT DER GENEESKUNDE
TE VERDEDIGEN OP
WOENSDAG 3 JULI 1957
DES NAMIDDAGS TE 4 UUR
DOOR

PETER MATHIAS BEAUMONT
GEBOREN TE MAASTRICHT

1957

N.V. BOEKDRUKKERIJ „HELMOND”

PROMOTOR:
PROF. DR. N. G. M. ORIE

AAN VROUWE LYDIA
AAN ONZE KINDEREN

Dit proefschrift werd bewerkt op de Onderafdeling voor Longziekten (hoofd Prof. Dr N. G. M. Orie) van de Interne Kliniek (hoofd Prof. Dr. F. S. P. van Buchem) van het Algemeen Provinciaal-, Stads- en Academisch Ziekenhuis te Groningen.

Het histologisch onderzoek van de huidreacties zoals BCG-, lepromine- en Kveim-test werd verricht in het Pathologisch-Anatomisch Laboratorium, hoofd Prof. Dr J. J. Th. Vos.

Het histologisch onderzoek van de tuberculine-reacties, reacties op mengsels van tuberculine en gamma globuline werd verricht door Prof. Dr H. Müller, hoofd van het P.A.L. te Eindhoven.

De haemagglutinatie-test volgens Middlebrook-Dubos werd verricht op het Bacteriologisch en Serologisch Laboratorium, hoofd Prof. Dr A. B. F. A. Pondman door collega C. A. Meyer.

Dr Felix Contreras Duenas, Médico director de la Colonia Sanatoria de San Francisco de Borja, Fontillis Moreto 15, Madrid, verstrekte ons lepromine.

De weefsel-suspensie voor het verrichten van de Kveim-test werd in de apotheek van het Academisch Ziekenhuis te Groningen door Dr T. Huizinga bereid.

De gamma globuline-oplossing werd door Dr. J. M. van Mulken (Den Haag) volgens een door hem gemodificeerde papier-pulp-zuilmethode van Böckemüller en Rebling bereid.

INHOUD

Hoofdstuk I. <i>Inleiding.</i>	1
Hoofdstuk II. <i>De tuberculine-reactie en de tuberculine-neutralisatie-test.</i>	
A. DE TUBERCULINE REACTIE.	
§ 1. <i>De tuberculine-gevoeligheid van de huid</i>	
a) Inleiding	5
b) Het gebruikte antigeen	5
c) De houdbaarheid	7
d) Het werkzame bestanddeel van het tuberculine	7
e) Uitvoeren van de reactie	7
§ 2. <i>De histologie van de tuberculine-reactie</i>	8
§ 3. <i>Verloop en mechanisme van de tuberculine-reactie</i>	
a) Verloop	
1. Binding van het tuberculine	8
2. Vroege fase	9
3. Vertraagde fase	9
b) Mechanisme	
1. Passieve humorale overdracht	10
2. Cellulaire overdracht	12
3. De rol van de antilichamen bij de tuberculine-reactie	
a. Bij vroege fase van de tuberculine-reactie	13
b. Bij de late fase van de tuberculine-reactie	14
§ 4. <i>De tuberculine-reactie bij de ziekte van Besnier-Boeck</i>	
a) De frequentie van het voorkomen van tuberculine-ongevoeligheid	16
b) De interpretatie van de negatieve tuberculine-reactie bij de ziekte van Besnier-Boeck	16
c) Enkele hypothesen welke voor de negatieve tuberculine-reactie bij de ziekte van Besnier-Boeck zijn opgesteld.	20

B. DE TUBERCULINE-NEUTRALISATIE-TEST.

§ 1. Inleiding	24
§ 2. <i>De tuberculine-neutralisatie-test uitgevoerd met sera van verschillende patiënten.</i>	
a) Patiënten lijdende aan tuberculose en tuberculine-gevoelige normale personen	25
b) Patiënten lijdende aan tuberculose die met tuberculine behandeld zijn	27
c) Normale personen die niet voor tuberculine gevoelig zijn	27
d) Patiënten lijdende aan de ziekte van Besnier-Boeck	28
e) Patiënten lijdende aan andere aandoeningen	29
§ 3. <i>De tuberculine-test uitgevoerd met blaarvocht afkomstig van positieve tuberculine-reacties</i>	29
§ 4. <i>Het aantonen van procutine in blaarvocht, papelserum of in een weefsel-suspensie van een positieve tuberculine-reactie</i>	29
§ 5. <i>Het aantonen van procutine in serum</i>	30
§ 6. <i>De invloed van de proefpersoon (receptor) op de tuberculine-neutralisatie-test</i>	31

C. EIGEN ONDERZOEK.

§ 1. Inleiding	31
§ 2. <i>De tuberculine-reactie</i>	
a) Het macroscopische beeld van de vroege fase van de tuberculine-reactie (Miles) en haar eventuele beïnvloeding door gamma-globuline	32
b) Het histologisch onderzoek van de vroege en late fase van de tuberculine-reactie	32
c) Het histologisch onderzoek van de injectieplaatsen van de mengsels tuberculine + gamma-globuline	33
d) Controle testen	35
§ 3. <i>Tuberculine-neutralisatie-testen</i>	
a) Tuberculine-neutralisatie-testen verricht met serum	35
b) Tuberculine-neutralisatie-testen verricht met isotonische oplossingen gamma-globuline van twee niet behandelde lijders aan de ziekte van Besnier-Boeck en zgn. normaal gamma-globuline	38

§ 4. <i>Discussie</i>	40
§ 5. <i>Conclusies</i>	42
<i>Literatuur</i>	43

Hoofdstuk III. *De i.c. BCG-vaccinatie.*

<i>Inleiding</i>	48
§ 1. <i>De toegepaste techniek van de BCG-vaccinatie en andere tuberkel-bacillen-vaccinaties</i>	49
§ 2. <i>De macroscopische reactie op de i.c. BCG-vaccinatie</i>	
a) Bij tuberculine-ongevoelige personen	49
b) Bij tuberculine-gevoelige personen	50
c) Bij patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck, welke voor tuberculine ongevoelig zijn	51
d) Bij patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck, welke voor tuberculine gevoelig zijn	53
§ 3. <i>De histologische veranderingen welke optreden na de i.c. BCG-vaccinaties</i>	
a) Bij tuberculine-ongevoelige normale personen	54
b) Bij tuberculine-gevoelige personen	55
c) Bij patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck, welke voor tuberculine ongevoelig zijn	56
d) Bij patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck welke voor tuberculine gevoelig zijn	58
e) Bij patiënten met tuberculose	58
f) Bij dieren die voor tuberculine ongevoelig zijn	59
§ 4. <i>De invloed van de BCG-vaccinatie op de gevoeligheid van de huid voor tuberculine bij:</i>	
a) Personen welke ongevoelig zijn voor tuberculine	60
b) Bij normale personen die voor tuberculine gevoelig zijn	61
c) Bij patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck welke ongevoelig zijn voor tuberculine	61
d) Bij patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck welke voor tuberculine gevoelig zijn	62

§ 5 <i>Zijn terplaatse van de BCG-vaccinatie nog tuberkel-bacillen aan te tonen</i>	62
§ 6. <i>Eigen onderzoek</i>	
a) De toegepaste techniek	63
b) De macroscopische reactie op de i.c. BCG-vaccinatie	63
c) De histologische veranderingen die optreden na de i.c. BCG-vaccinatie	64
d) De invloed van de i.c. BCG-vaccinatie op de gevoeligheid voor tuberculine	64
e) Het aanwezig zijn van tuberkel-bacillen in de vaccinatieplaats 6 weken na de BCG-injectie.	64
§ 7. <i>Discussie</i>	64
§ 8. <i>Conclusies</i>	68
<i>Literatuur</i>	69

Hoofdstuk IV. *De lepromine-test.*

§ 1. <i>Inleiding</i>	72
§ 2. <i>Methode van bereiden van de bacillen-suspensie</i>	73
§ 3. <i>De reactie op de i.c. injectie van lepromine</i>	74
§ 4. <i>De histologie van de lepromine-test</i>	75
§ 5. <i>De interpretatie van de reactie</i>	78
§ 6. <i>Welke bestanddelen van het lepromine zijn verantwoordelijk voor de positieve lepromine-reactie</i>	79
§ 7 <i>De lepromine-test bij gezonde personen, patiënten met tuberculose en de ziekte van Besnier-Boeck</i>	81
§ 8. <i>Eigen onderzoek</i>	
1. <i>Lepromine-test</i>	
a) bij normale personen	85
b) bij patiënten met longtuberculose	85
c) bij patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck	86
2. <i>Histologie van de lepromine-test</i>	87

§ 9. <i>Discussie</i>	88
§ 10. <i>Conclusies</i>	90
<i>Literatuur</i>	91

Hoofdstuk V. *De Kveim-test.*

<i>Inleiding</i>	94
§ 1. <i>De weefsel-suspensie voor het verrichten van de Kveim-test</i>	
a) Aard van het materiaal	95
b) Bereiden van de weefsel-suspensie	96
c) Bewaren van het materiaal	97
d) Toetsen op steriliteit	97
e) Chemische eigenschappen	98
f) Fysische eigenschappen	99
g) Histologie van het basis-materiaal en activiteit van de weefsel-suspensie	99
h) Controle-proeven verricht met suspensies van diverse aard	99
i) Dosering	102
j) De plaats van de i.c. weefsel-injectie	102
k. Het aantal gebruikte weefsel-suspensies	102
§ 2. <i>Het verloop van de Kveim-test</i>	
a) Bij patiënten lijdende aan de ziekte van Besnier-Boeck	102
b) Bij normale personen en patiënten die aan andere aandoeningen dan de ziekte van Besnier-Boeck lijden	104
§ 3. <i>De werkzaamheid van diverse orgaan-suspensies</i>	105
§ 4. <i>De histologie van de positieve Kveim-test</i>	
a) Bij patiënten lijdende aan de ziekte van Besnier-Boeck	105
b) Bij controle-patiënten	108
§ 5. <i>Criteria voor een positieve Kveim-test</i>	108

§ 6. <i>Welke gegevens vindt men in de literatuur over de resultaten van de Kveim-test?</i>	
a) Bij gezonde personen	109
b) Bij patiënten lijdende aan tuberculose	109
c) Bij patiënten lijdende aan enige andere aandoeningen	111
d) Bij patiënten lijdende aan de ziekte van Besnier-Boeck	111
§ 7. <i>Hypothesen ter verklaring van de Kveim-test</i>	113
§ 8. <i>Eigen onderzoek</i>	
a) Bereidingswijze van de weefsel-suspensie voor de Kveim-test	117
b) Uitvoering van de reactie	117
c) Resultaten van de Kveim-test	118
§ 9. <i>Discussie</i>	120
§ 10. <i>Conclusies</i>	125
<i>Literatuur</i>	126
 Hoofdstuk VI. <i>De haemagglutinatie-reactie van Middlebrook-Dubos.</i>	
§ 1. <i>Inleiding</i>	128
§ 2. <i>Uitvoering van de reactie</i>	
a) De methodiek	129
b) Het criterium voor een positieve reactie	130
§ 3. <i>Wijzigingen van de reactie van Middlebrook-Dubos</i>	
a) De keuze van het antigeen	131
b) De keuze van de erythrocyt resp. de voorbehandeling van deze erythrocyt tot receptor van antigeen	132
c) Het wijzigen van de agglutinatie-reactie in een haemolyse-reactie	133
§ 4. <i>De antigenen verantwoordelijk voor de haemagglutinatie-reactie</i>	
a) De antigene fracties van de tuberkelbacil en cultuur-filtraten	135

b) Het erythrocyten-sensibiliserend principe	135
c) De chemische aard van het erythrocyten-sensibiliserend principe	136
§ 5. <i>De haemagglutinatie-reactie bij gezonde personen</i>	
a) Bij pasgeborenen	139
b) Bij tuberculine gevoelige en ongevoelige normale personen	139
c) Het wijzigen van de haemagglutinatie-titer na het verrichten van de tuberculine-reactie	140
d) Het wijzigen van de haemagglutinatie-titer na het verrichten van BCG-vaccinatie	141
e) De mogelijke betekenis van andere factoren bij het optreden van positieve haemagglutinatie-reacties bij gezonde personen	141
§ 6. <i>De haemagglutinatie-reactie bij patiënten lijdende aan tuberculose en bij controle-groepen</i>	
a) Resultaten uit de literatuur	142
b) De resultaten van de complement bindende haemolytische reactie ter vergelijking met die van de haemagglutinatie-reactie	142
c) De klinische betekenis van de haemagglutinatie-reactie bij tuberculose	145
§ 7. <i>De haemagglutinatie-reactie bij patiënten lijdende aan de ziekte van Besnier-Boeck</i>	
a) Gegevens uit de literatuur	147
b) Bij een groep van onze eigen patiënten	
1. gevolgde techniek	148
2. resultaten	148
§ 8. <i>Discussie</i>	149
§ 9. <i>Conclusies</i>	150
<i>Literatuur</i>	151
Hoofdstuk VII. <i>Algehele samenvatting</i>	154
<i>General summary</i>	163

INLEIDING

De ziekte van Besnier-Boeck heeft, sinds men haar verschillende manifestaties als een ziekte-entiteit heeft leren beschouwen, steeds de volle belangstelling getrokken van de medische wetenschappen.

Ontelbaar zijn de publicaties die aan deze ziekte en de talloze vragen die zij oproept gewijd zijn. Ofschoon waardevolle winsten werden behaald biedt deze ziekte nog steeds vele onopgeloste problemen.

Zeer centraal in de belangstelling heeft uiteraard gestaan de vraag naar de aetiologie van de aandoening. Verschillende hypothesen werden opgesteld, beurtelings werden verschillende infectieuze agentia als mogelijke verwekkers van de ziekte beschouwd. Immunologische en allergische verhoudingen bij deze ziekte werden beschreven. Hierop gebaseerde huidtests en serologische reacties werden medegedeeld. Zij werden als diagnostisch hulpmiddel soms enige tijd gepropageerd, doch in een later stadium weer bestreden of zelfs afgewezen.

Het zou ondoenlijk zijn binnen het raam van een proefschrift alle facetten van deze vele problemen te belichten.

Onze aandacht van medicus practicus werd in het bijzonder getrokken naar die fundamentele gedachten en waarnemingen i.v.m. de ziekte van Besnier-Boeck die een aanwijzing schenen in te houden tot een betere diagnostische benadering van de ziekte en tot een beter begrip van de aetiologie.

Aan enkele van deze gedachten en waarnemingen die in dit proefschrift ter sprake zullen komen moge hier een enkel inleidend woord gewijd worden.

Een hypothese die in verband met de aetiologie van de ziekte van Besnier-Boeck grote belangstelling heeft getrokken is die van J. Jadassohn.

J. Jadassohn heeft om de hoge frequentie van negatieve tuberculine-reacties bij de ziekte van Besnier-Boeck te verklaren, de theorie opgesteld van de z.g. positieve anergie. Deze berust op een hypothese dat de ziekte van Besnier-Boeck zou worden veroorzaakt door het mycobacterium tuberculosis, waarbij de patiënt een zeer hoge mate van immuniteit zou bezitten bij negatieve tuberculine-reactie.

De lijder zou zo snel met de binnendringende tuberkelbacil afrekenen, dat deze niet meer aantoonbaar is. Alleen het pathologisch-

anatomisch substraat zou nog als rest van de strijd waarneembaar zijn.

„Der Organismus wird nämlich (um es grob auszudrücken) mit dem Tuberculin so rasch fertig, dasz es nicht oder nur zu einer schwachen Reaktion kommt. In gegensatz zu dieser Form der Anergie, die als spezifische oder positive bezeichnet wurde, und die eine besondere Form der Immunität darstellt, kommt es bei der negativen Anergie bei nicht infizierten oder bei Kachektischen nicht zur Reaktion, weil der Organismus nicht mit dem Tuberculin zu reagieren vermag.“

Om een inzicht te verkrijgen in het frequente negatieve beloop van de tuberculine-reactie bij de ziekte van Besnier-Boeck zullen wij trachten na te gaan hoe en waarom in het algemeen een positieve tuberculine-reactie tot stand komt. Wanneer wij de achtereenvolgende fasen in het verloop van de positieve tuberculine-reactie hebben nagegaan zullen wij factoren vermelden die deze reactie in zijn beloop verstoren. Enkele theorieën die in verband met de frequente negatieve tuberculine-reactie bij de ziekte van Besnier-Boeck werden opgesteld zullen wij weergeven. Deze brengen ons tevens midden in het probleem van de tuberculeuze genese van de ziekte van Besnier-Boeck.

Om de tuberculeuze aetiologie van ziekten aan te kunnen tonen, heeft men met het serum van deze patiënten, tuberculine neutralisatie-testen uitgevoerd. Hierbij wordt serum van de te onderzoeken persoon (donor) en tuberculine gemengd, waarna met dit mengsel i.c. injecties bij proefpersonen (receptor) worden verricht. Wanneer de ziekte waaraan de patiënt lijdt door het mycobacterium tuberculosis zou veroorzaakt worden, dan zou het tuberculine worden afgebroken. Het gevolg is een verzwakte tot opgeheven tuberculine-reactie (Martenstein). Wells en Wylie namen waar dat gamma globuline van een patiënt met de ziekte van Besnier-Boeck tot en met een honderdvoudige verdunning toe, tuberculine volledig kan neutraliseren. Bij de ziekte van Besnier-Boeck is bekend dat er zeer frequent een hoog gamma globuline-gehalte in het bloedserum aanwezig is (Salvesen). Het gamma globuline als drager van antilichamen zou een product zijn van rijpe en onrijpe plasmacellen (Frageus, Keuning en van der Slikke) lymphocyten en histiocyten. Dit zijn alle waarnemingen welke voor de kliniek van waarde zouden kunnen zijn. De tuberculine neutralisatie-test zal in hoofdstuk II worden besproken.

Men heeft de theorie van J. Jadassohn van de positieve anergie t.o.v. het mycobacterium tuberculosis nooit bewezen. Lemming zag in de BCG-vaccinatie een middel om de theorie van J. Jadassohn te controleren. Immers, indien de ziekte van Besnier-Boeck zou berusten op een positieve vorm van anergie t.o.v. het mycobacterium tuberculosis, dan zou ook na BCG-vaccinatie de tuberculine-reactie negatief moeten blijven. Het uitblijven van een positieve tuberculine-reactie na BCG-vaccinatie zien Israël en Sones niet als gevolg van een immuniteit, maar veel-

eer als een uitdrukking van het ontbreken van de cellulaire vorm van allergie, bij deze patiënten.

De hoge graad van immuniteit zou tot uiting moeten komen in het snelle verdwijnen van de tuberkel-bacillen. Er zijn maar zelden bij patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck in het zieke weefsel levende virulente tuberkel-bacillen aangetoond (Kyrle).

Warfinge gebruikte eenmaal levende humane tuberkel-bacillen en verkreeg hetzelfde resultaat. Hierna maakte hij ook van gedode tuberkel-bacillen gebruik voor de huidtest.

Bjørnstadt wees op de invloed die de tijdsfactor heeft op het histologisch beeld dat men waarneemt bij onderzoek van de i.c. BCG-vaccinatie-plaats.

De problemen samenhangende met de BCG-test komen ter sprake in hoofdstuk III.

De allergie en immuniteit bij tuberculose zijn twee begrippen, die, al lopen zij vaak parallel, in wezen streng van elkaar gescheiden dienen te worden. Er is bij de tuberculose geen klinisch bruikbare immuniteits-reactie bekend. Tussen het mycobacterium leprae Hansen en het mycobacterium tuberculosis bestaat het verschijnsel van kruis-allergie. Rutgers geeft hierover uitvoerige literatuurverwijzingen.

Nu bestaat er bij de lepra wel een immuniteits-reactie in de vorm van de lepromine-test. Daar de lepra-bacil practisch niet in cultuur te brengen is, wordt lepromateus weefsel rijk aan leprabacillen gebruikt om een bacterie suspensie te bereiden. De i.c. injecties leveren twee reactie-vormen op:

- 1) De vroege of Fernandez-reactie, welke een reactie is op het proteïne van de leprabacil. Zij is in aard een allergische reactie te vergelijken met de tuberculinetest.
- 2) De late of Mitsuda-reactie zou de immuniteits-reactie zijn daar bij de goedaardige vorm van lepra, de tuberculoïde vorm, deze test positief is en bij de vorm van lepra met een slechte prognose, de lepromateuze vorm, als regel negatief. Het histologisch beeld van een positieve reactie vertoont sarcoïde structuren. Wanneer de ziekte van Besnier-Boeck een bijzondere vorm van tuberculose zou zijn in de zin van de theorie van J. Jadassohn, dan doet zich de vraag voor of men op grond van de kruis-allergie tussen de lepra en tuberkelbacil bij deze ziekte een positieve Mitsuda-reactie mag verwachten.

Over de leprominetest handelt hoofdstuk IV.

Het was in 1940 dat Kveim tijdens zijn onderzoeken naar de aetiologie van de ziekte van Besnier-Boeck een publicatie het licht deed zien waarin hij een huidtest beschreef die uitgevoerd werd met een weefselsuspensie bereid uit lymphomen van een Besnier-Boeck patiënt. Hij was tot deze huidtest gekomen door in analogie met Frei, bij het lymphogranuloma inguinale, een virus als oorzaak van de morbus Besnier-Boeck te veronderstellen. Kveim verkreeg bij i.c. injectie van zijn weefselsuspensie bij lijders aan de ziekte van Besnier-Boeck na weken een papeltje dat langzaam

groeide en na maanden verdween. Controle-patiënten vertoonden dit verschijnsel niet. Het papeltje bleek bij histologisch onderzoek een sarcoïde structuur te hebben. Deze waarneming werd door andere onderzoekers bevestigd, Putkonen, Rogers en Haserick, Silzbach en Ehrlich. Kveim zag in deze positieve huidreactie een test die kenmerkend zou zijn voor de ziekte van Besnier-Boeck. In hoofdstuk V zal de Kveimtest ter sprake komen.

Middlebrook en Dubos beschreven in 1948 een haemagglutinatireactie waarmee zij antilichamen in het serum van patiënten die aan tuberculose leden aantoonde. De door tuberkelbacillen in bouillon afgescheiden polysacchariden zijn in staat schapen erythrocyten te sensibiliseren, zodanig dat zij daarna door het serum van lijders aan tuberculose worden geagglutineerd. Er is veel critiek op de reactie geleverd, vooral door de waarnemingen van het voorkomen van ten onrechte positieve reacties. Bij lijders aan tuberculose verliep de haemagglutinatireactie in een hoog percentage positief (Scott en Smith, Gernez-Rieux en Tacquet, Boyden, Pondman e.a.).

Bij een tuberculeuze aetiologie van de ziekte van Besnier-Boeck zou men frequent positieve haemagglutinatireacties mogen verwachten.

De haemagglutinatireactie vormt het onderwerp van bespreking in hoofdstuk VI.

Voor de diagnose ziekte van Besnier-Boeck eist men naast de klinische verschijnselen, een bevestiging door histologisch onderzoek.

Een substraat hiervoor is niet altijd gemakkelijk te verkrijgen. Wij hebben ons de vraag gesteld, of een van de drie bovengenoemde reacties: de BCG-vaccinatie, lepromine-test en de Kveimtest in hun beloop en histologisch beeld, steun voor de diagnose ziekte van Besnier-Boeck zouden kunnen verlenen. Ook de tuberculine-neutralisatie-test en de haemagglutinatireactie zou een argument voor of tegen kunnen verschaffen.

Wij menen op grond hiervan gerechtigd te zijn de volgende onderzoeken te verrichten:

- a) de tuberculine-reactie mede met het doel deze in de vroege fase te vervolgen.
- b) de tuberculine-neutralisatie-test uitgevoerd met serum en gamma globuline van de Besnier-Boeck-patiënten en normale personen.
- c) de i.c. BCG-vaccinatie, teneinde de omslag van tuberculinegevoeligheid na te gaan. Tevens de reactie op de i.c. BCG-vaccinatie macro- en microscopisch te onderzoeken.
- d) de lepromine-test bij normale personen, lijders aan tuberculose en patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck.
- e) het aantonen van zuurvaste staafjes in de injectieplaatsen van het BCG-vaccin of het lepromine, 6 weken na de injectie.
- f) de Kveim-test.
- g) de haemagglutinatireactie van Middlebrook-Dubos bij enkele patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck.

DE TUBERCULINE-REACTIE EN DE TUBERCULINE-NEUTRALISATIE-TEST

A. DE TUBERCULINE-REACTIE

§ 1 DE TUBERCULINE-GEVOELIGHEID VAN DE HUID.

a) Inleiding.

Robert Koch, de ontdekker van het mycobacterium tuberculosis, deed jaren nadien mededelingen over het tuberculine. Dit werd met therapeutische oogmerken toegepast. Helaas werden te grote hoeveelheden gebruikt, zodat deze methodiek snel in onbruik raakte. Het was aan Koch bekend dat men bij proefdieren die niet met de tuberkel-bacil in aanraking waren geweest grote hoeveelheden tuberculine kon inspuiten zonder dat merkbare reacties optraden. Bij een besmet dier geven kleine hoeveelheden tuberculine al reactie. Deze kan zijn plaatselijk, algemeen en op afstand.

Aan von Pirquet is het te danken dat de tuberculine-huidreactie diagnostische betekenis kreeg. Von Pirquet bestudeerde n.l. de proeven van Jenner die een eeuw tevoren bij revaccinatie van pokken een reactie waarnam, welke wij thans kennen als de „reaction of immunity”. Dit is een na 3 dagen optredende rode infiltratie op de vaccinatie-plaats, welke daarna weer verdwijnt. Von Pirquet bracht tuberculine op huid-scarificaties en zag bij personen die niet met de tuberkel-bacil in aanraking waren geweest weinig of geen reactie. Bij lijders aan tuberculose nam hij een locale reactie waar welke thans aan een ieder bekend is als de reactie van von Pirquet.

De naam allergie is van von Pirquet afkomstig. Hij bedoelde hiermede het anders reageren van het lichaam na een voorafgaande infectie op het infectieuze agens.

b) Het gebruikte antigeen.

Van de verschillende tuberculines worden in de kliniek het oud-tuberculine en P.P.D. het meest gebruikt.

1. De bereidingswijze van het oud tuberculine volgens Koch wordt met kleine variaties nog steeds toegepast. Dit tuberculine heet „Alttuberculine” of oud tuberculine (O.T.).

Van het door ons gebruikte O.T. geeft het Rijks-Instituut voor de Volksgezondheid te Utrecht de volgende bereidingswijze op, (H. P. Landsberg).

Bereiding tuberculine: Daarbij wordt steeds uitgegaan van aardappel-culturen van stam C en T en wel van het vliesje, dat zich daarbij na een maand kweken op glycerinewater heeft gevormd.

Met behulp van een platina-spatel worden stukjes van het vliesje losgemaakt en zo voorzichtig mogelijk op de bouillonkolven overgebracht, zodat ze ook daar op de bouillon blijven drijven. Wanneer men veel flessen moet enten, neemt men als voorcultuur een kolfje van 250 ml. met 100 ml. glycerinebouillon en kweekt hierop tot zich een flink vlies heeft gevormd (2-3 weken).

Gebruikt worden platte flessen met schuine hals, die elk 0.5 liter bouillon bevatten (Kalfsbouillon met 5 % glycerine Merck) ph 7.3.

Na enting 8 weken in de stoof bij 37 graden plaatsen. Bij voldoende ontwikkeling (volgegroeid oppervlak met heldere bouillon) wordt tot de verdere bewerking overgegaan. De flessen worden daartoe in een sterilisator volgens Koch gebracht en gedurende $1\frac{1}{2}$ uur op 100 graden verhit. Daarna wordt de inhoud der flessen uitgestort op een indampschaal, die op een kokend waterbad is geplaatst (waterbad met constant niveau).

Nadat op $\pm \frac{1}{10}$ van het oorspronkelijke volume is ingedampt, wordt het verkregen product door papier gefiltreerd. Daarna met steriel aqua dest. aanvullen tot precies $\frac{1}{10}$ van het oorspronkelijke volume.

Nu wordt zoveel tricresol toegevoegd, tot de eindconcentratie van 0.3 % tricresol is bereikt. Door het indampen is het gehalte aan glycerine 50 %.

Het verkregen eindproduct is de tuberculine, die aan een drietal controles wordt onderworpen.

1. Steriliteitsproef: Op de gebruikelijke wijze wordt de steriliteit bepaald.
2. Kweekproef: Enige cm^3 van de tuberculine wordt ingezonden aan de tuberculose-afdeling voor het doen van deze proef.

3. Dierproef: Een drietal marmotten wordt met 1 cm^3 van deze tuberculine intraperitoneaal ingespoten.

Blijven steriliteits-, kweek- (te beoordelen na 6 weken) en dierproef (te beoordelen uit het klinische verloop en een sectie der marmotten na 2 maanden) negatief, dan wordt tot titratie der nieuw bereide tuberculine overgegaan.

De titratie geschiedt door intracutane injectie met verschillende verdunningen bij caviae, die 6 maanden tevoren met B.C.G. zijn behandeld. Ter vergelijking wordt bij dezelfde cavia dezelfde reeks verdunningen van een standaard-tuberculine ingespoten. Dit laatste is afkomstig uit het Staats Serum Instituut in Kopenhagen.

2. Zoals bij de bereidingswijze van het oud tuberculine van Koch bleek, zijn er naast de werkzame factor vele andere stoffen in de vloeistof aanwezig.

Er zitten stoffen in afkomstig van de voedingsbodem, stofwisselingsproducten van de tuberkel-bacillen, bestanddelen van de tuberkel-bacillen zelf die door autolyse en bij het verhitten van de cultuur vrijkomen.

Koch heeft geprobeerd de werkzame factor te isoleren. Door middel van alcohol werd deze fractie geprecipiteerd. Hij meende dat het werkzame bestanddeel een eiwitproduct moest zijn.

Gezuiverde tuberculoproteïnen die als test allergeen voor de tuberculine-reactie dienst doen zijn op verschillende wijzen uit de ruwe tuberculines, uit cultuurvloeistoffen of uit de tuberkel-bacillen te bereiden. Bij de procedure van Seibert blijkt dat er uit

niet verhitte cultures 3 tuberculoproteïnes en 2 polysacchariden te isoleren zijn. Slechts de tuberculoproteïnes zijn werkzaam. Deze tuberculoproteïnes blijken als volledige eiwitten, antilichamen op te wekken en daarmee een directe vorm van huidreactie (Hanks). Gezuiverde tuberculoproteïnen die ook als test-antigeen te gebruiken zijn maar geen sensibiliserende eigenschappen hebben, zijn bereid uit verhitte culturen, uit culturen die met trichloorazijnzuur (P. P. D. Seibert), of met salicylzuur (Instituut Pasteur) werden gepraecipiteerd. Zelfs deze gezuiverde tuberculoproteïnen zijn electrophoretisch niet homogeen.

c) De houdbaarheid.

Het oud tuberculine blijkt onverdund voor onbepaalde tijd houdbaar te zijn, wanneer het bij 4 graden C. in het donker bewaard wordt. Verdunt men echter O.T. voor het verrichten van i.c. huid-reacties, dan vermindert na 3 à 4 weken de werkzaamheid.

d) Het werkzame bestanddeel van het tuberculine.

Zoals uit het onderzoek van Seibert is gebleken is de werkzame factor waarschijnlijk tuberculoproteïne, een mening die ook Koch deelde.

e) Uitvoeren van de reactie.

Bij onze onderzoeken hebben wij gebruik gemaakt van het oud tuberculine voor de reactie van van Balen-Mantoux, daar nauwkeurig doseren hierbij inderdaad mogelijk is. In het vervolg zullen wij alleen over de „Mantoux”-reactie spreken.

Met behulp van een geijkte gecalibreerde Mantoux-spuut werd 1/10 cc. van een tuberculine-oplossing van een bepaalde sterkte door een fijne naald (nr. 18) met spitse punt i.c. ingespoten. Hierbij verdient het aanbeveling de naald met de opening naar de huidoppervlakte te richten. Bij het bepalen van de gevoeligheid voor tuberculine werd 1/10 cc., van een oplossing 1/1000 (10 T.U.) i.c. ingespoten.

Het aflezen geschiedt na 72 uur. De niet specifieke reacties zijn dan verdwenen. De doorsnede van het infiltraat moet 6 mm. of meer bedragen wil men de reactie positief noemen. Van het wel of niet optreden van een rode hof werd alleen kennis genomen. De mogelijkheid bestaat dat bij zeer gevoelige personen blaarvorming kan optreden, ook wel haemorrhagiën met necrose als gevolg. De volaire zijde van de onderarm werd als injectie-plaats gebruikt, wanneer het diagnostische doeleinden betrof. Ging het om een vergelijkend onderzoek, dan werd de rug gebruikt. De reden hiertoe was dat dit een bedekt lichaamsdeel is dat voldoende ruimte bood voor het tegelijkertijd verrichten van meerdere reacties. Men drukt de sterkte van het gebruikte tuberculine uit in „tuberculine-units” (T.U.). 1 T.U. komt wat het oud tuberculine betreft

overeen met 0,01 mgr. van het als internationaal standaard genomen O.T., hetgeen gelijk is aan 0,1 cc. van 1/10.000 verdunde O.T.-oplossing.

§ 2 DE HISTOLOGIE VAN DE TUBERCULINE-REACTIE.

De histologie van de tuberculine-reactie is uitgebreid bestudeerd.

Volgens Rich kan men steeds bij de voor tuberculine-gevoelige personen een aantal opeenvolgende feiten vaststellen n.l. een versnelde en versterkte ontstekingsreactie in vergelijking met het effect van dezelfde hoeveelheid tuberculoproteïne op het weefsel van een voor tuberculine ongevoelige persoon.

De tuberculine-reactie verloopt aanvankelijk als een banaal ontstekingsproces. Het proces begint met verwijding der capillairen, exsudatie van vocht en cellen met een overheersen van polynucleaire cellen in het exsudaat. Dit wordt door Gell en Hinde beschouwd als een aspecifieke reactie op het trauma. De mogelijkheid bestaat dat het een uiting is van een directe vorm van reageren veroorzaakt door circulerende antilichamen (Miles). Al naar gelang nu de hevigheid van de reactie, verschijnen bij de voor tuberculine-gevoelige personen meer of minder vlug (in uren) na de polynucleaire cellen, de mononucleairen.

Mononucleaire cellen nemen snel in aantal toe en beheersen spoedig het microscopische beeld. Bij sterk positief verlopende reacties kan necrose optreden. Er verschijnen epitheloïde cellen en zelfs reuscellen van Langhans om deze necrotische haard op te ruimen. Als regel verdwijnt de macroscopische reactie op tuberculine na enige dagen. Histologisch ziet men dan resorptie van het mononucleaire infiltraat.

§ 3 VERLOOP EN MECHANISME VAN DE TUBERCULINE-REACTIE.

a) Verloop.

1. De binding van het tuberculine in de weefsels terplaatse van de test. Bij de tuberculine-reactie wordt tuberculine in de huid gebracht, het wordt terplaatse gebonden, maar hoe dit gebeurt is niet bekend. Gebeurt dit binden niet, t.g.v. een verhoogde aanvoer van bloed en/of afvoer door het weefselvocht in de lymfe-vaten, dan kan de tuberculine-reactie afwezig of verzwakt zijn.

Pepys toonde dit aan door histamine of hyaluronidase aan het tuberculine toe te voegen. De negatieve tuberculine-reacties tijdens de graviditeit, enkele dagen voor de menses en op de huidgebieden verricht welke aan de zon worden blootgesteld zouden op hydraemie berusten, gepaard gaande met een versnelde afvoer van tuberculine. Door op verschillende tijden na het verrichten van i.c. tuberculine-injecties histamine terplaatse toe te voegen, kon Pepys nagaan na hoeveel tijd de binding had plaats gevonden. Dit bleek vroegtijdig, in de eerste minuten te gebeuren. Wan-

neer adrenaline aan het tuberculine werd toegevoegd, zag Pepys vlugger een reactie optreden die tevens sterker was dan de controle-reactie. Door de optredende vasoconstrictie ontstaat een verminderde bloedtoevoer en lymfhe-afvoer. Tengevolge hiervan zou een locale tuberculine-retentie ontstaan met als gevolg een versnelde en versterkte reactie.

Keuning veronderstelt dat het tuberculine terplaatse met een factor uit het bindweefsel een binding aangaat (Mondelinge mededeling).

2. De vroege fase van de reactie die gelijk is op de directe vorm van allergie en welke macroscopisch niet zichtbaar is.

Miles vermeldt de „directe vorm” van allergie na i.c. injectie van tuberculine bij voor tuberculine gevoelige caviae.

Hij deed deze waarnemingen door bij de voor tuberculine gevoelige caviae een blauwe kleurstof (pontamine 6 B x) i.v. in te spuiten alvorens de tuberculine-testen i.c. te verrichten. Terplaatse van de i.c. tuberculine-injectie nam hij binnen enkele minuten een blauwe hof waar.

Pepys heeft deze waarnemingen gecontroleerd bij caviae welke door middel van de tuberkel-bacillen of BCG voor tuberculine gevoelig waren geworden. Tevens werden deze proefdieren tegen paardenserum gesensibiliseerd. Na de i.v. injectie van pontamine blauw (6 B x) kregen caviae i.c. injecties van 0,1 cc. PPD in wisselende sterkte en 0,1 cc. verdunde paardenserum. Binnen enkele minuten ontstonden er blauwe plekken ter grootte van 10-20 mm. Om te kunnen vaststellen welke antigene factor (polysacchariden, proteïne) voor deze directe vorm van reageren verantwoordelijk is, zou men de beschikking moeten hebben over gezuiverde fracties van de tuberkel-bacil.

Wel is bekend dat polysacchariden van andere bacteriën (pneumococci, Tillett en Francis) in staat waren directe reacties te geven terwijl hun proteïnen vertraagde reacties gaven. Op grond van deze en analoge gegevens, meent Pepys dat de polysacchariden van het tuberculine verantwoordelijk zijn voor de directe vorm van reageren. Rich en Follis die de histologie van de vroege fase van de tuberculine-reactie bekeken hebben, zien een geringe vasculaire reactie met polynucleaire infiltratie, die bij tuberculine-positieven en -negatieven niet verschilt. Bij tuberculine-gevoelige personen verschijnen deze infiltraten wel eerder.

3. De vertraagde fase van de reactie welke bestaat uit roodheid en infiltratie. Deze treedt enige uren na de tuberculine-applicatie op. Zij wordt sterker gedurende de eerste dagen en bereikt meestal na 48 of 72 uur haar maximum. Dit blijkt te berusten op de in dit stadium gevonden infiltratie van mononucleaire cellen. De vertraagde fase zou berusten op een reageren op, respectievelijk met, de in het tuberculine aanwezige tuberculo-proteïnen. De mononucleaire cellen die zich terplaatse van het antigeen ophopen spelen bij deze reactie een rol die voorlopig nog onbekend is, hetzij als dragers van specifieke antilichamen hetzij als cellen met een specifiek veranderd reactievermogen (Rich, Chase).

b) Mechanisme.

Een van de middelen om het mechanisme van de tuberculine-reactie te achterhalen is de bestudering van de overdracht van de tuberculine-reactie.

1) De passieve humorale overdracht van de gevoeligheid voor tuberculine.

Het werkzame bestanddeel van het oud tuberculine is een tuberculoproteïne. Bij parenterale toediening van dit tuberculoproteïne bij mens en dier, die niet in aanraking zijn geweest met een mycobacterium, ontstaat geen gevoeligheid van de huid in de zin van een z.g. vertraagde reactie t.o.v. tuberculine. Dit is een zeer merkwaardig verschijnsel.

De antilichamen welke door de tuberkel-bacil zelf of door zijn afscheidingsproducten worden opgewekt en die als opsoninen, agglutininen, precipitinen, complement-bindende antilichamen in het serum bij een lijder aan een tuberculeuze infectie aantoonbaar zijn, hebben geen enkel verband met de tuberculine-gevoeligheid van de huid.

Hoe hoog deze titers ook mogen zijn, met behulp van serum is geen gevoeligheid voor tuberculine van de ene persoon op de andere over te brengen: Lawrence, Aronson.

Wanneer door middel van desensibilisatie de gevoeligheid van de huid voor tuberculine verdween, bleven de antilichamen-titers in het serum onveranderd aanwezig: Freud en Opie, Baker, Follis Jr. Er is geen verband tussen de antilichamen-titer van het serum en de mate van tuberculine-gevoeligheid van de huid.

Zoals hierboven werd vermeld is de directe fase van de tuberculine-reactie bij caviae door Miles en Pepys met behulp van pontamine-blauw aangetoond. Pepys was in staat dit verschijnsel bij tuberculine-ongevoelige caviae met behulp van serum afkomstig van tuberculine-gevoelige caviae over te brengen. Bij gesensibiliseerde en normale caviae verrichtte hij niet nader omschreven controle-testen. Terplaatse van de injectie nam hij slechts kleine langzaam opkomende blauwe vlekjes waar. Reactie op het trauma? Deze passieve overdracht kwam alleen tot stand 6 à 8 weken na de tuberkel-bacillen-injectie en 2 à 3 weken na de paardenserum-injectie.

Hoe kan men deze directe fase van reageren in het beloop van de tuberculine-reactie interpreteren?

Pepys doet de suggestie dat er tussen deze directe vorm van allergie bij de tuberculine-reactie en het vroegtijdig binden van het tuberculine aan het weefsel een relatie zou bestaan. Nadere suggesties over de aard van deze binding geeft hij niet. Wanneer de antigeen-antilichaam-reactie plaats heeft en histamine vrij komt, wordt dit macroscopisch zichtbaar door de optredende vasodila-

tatie (roodheid) en verhoogde vaatwand-permeabiliteit (oedeem, zwelling en infiltratie). Miles toont deze vaatwand-permeabiliteit aan met behulp van blauwe kleurstof welke in de bloedbaan werd geïnjecteerd. De reactie-plaats verkleurt t.o.v. zijn omgeving blauw. Pepys meent dat door deze vasodilatatie er een verhoogde aanvoer van mononucleaire cellen naar de weefsels kan ontstaan. Deze cellen vormen uiteindelijk het infiltraat voor de positieve tuberculine-reactie dat uitwendig zichtbaar en palpabel wordt.

Cole en Favour verstrekten mededelingen omtrent het overbrengen van tuberculine-gevoeligheid bij de caviae door middel van een factor die aanwezig is in een sub-fractie (IV-10) van alpha-globuline. Deze werd geïsoleerd uit het serum van tuberculine-gevoelige donores.

Wanneer fractie II (gamma-globuline) en subfractie IV-10 (alpha-globuline) werden samengebracht, dan werd de overdracht van de vertraagde vorm van allergie geblokkeerd. Gamma-globuline met P.P.D. of O.T. geeft een directe reactie. Deze eerste fase van de tuberculine-reactie verloopt bij deze overgebrachte tuberculine-gevoeligheid nu vrij heftig, soms zelfs urticariëel. Daar zoals uit hun experimenten blijkt antilichamen tegen polysaccharid in het gamma-globuline voorkomen en zowel P.P.D. als het O.T. de polysaccharide van de tuberkel-bacil bevatten, nemen zij aan dat deze vroege reactie hierop berust.

Cole en Favour suggereren nu dat de tuberculine-reactie geblokkeerd wordt door een versnelde afvoer van het tuberculine als gevolg van de directe vorm van reageren: polysaccharide — gamma-globuline.

Favour meent dat nog onderzocht moet worden of de overgebrachte reactie een tuberculine-reactie of een reactie van het Arthus type is.

Zij verrichtten histologisch onderzoek van P.P.D. huidreacties. Dit gebeurde 24 uur na het verrichten van de reactie. Dit had plaats bij caviae die tuberculine-gevoeligheid hadden verkregen na toediening van subfractie (IV-10). Tevens werd dit verricht bij caviae met tuberculose en bij caviae die tevoren met BCG waren behandeld waardoor zij meer of minder gevoelig voor tuberculine waren geworden.

De histologie van de tuberculine-reactie bij de met subfractie IV-10 behandelde dieren beschreven zij als volgt. De cellulaire infiltratie bestond uit mono- en polynucleaire cellen waarvan de laatste overheersten. Enkele eosinophile cellen werden gezien. Er was wat oedeem en vaatovervulling.

Van bijzonder belang is echter het feit dat de proefdieren alleen geschikt zijn als donor te fungeren, indien bij hen tevoren (binnen 48 uur) de tuberculine-reactie verricht is. Gebeurt dit niet dan treedt de overdracht niet op. Favour geeft de suggestie van lysis van bepaalde cellen van de gastheer door het antigeen, in vivo, waardoor bevrijding van antilichaam naar het plasma kan ontstaan. Herhaling van de proeven van Cole en Favour vielen geheel negatief uit. (Keuning, Ehrenkranz en Waksman.)

2) *De cellulaire overdracht van de gevoeligheid voor tuberculine.*

Door Landsteiner en Chase en door Chase werd bij de caviae waargenomen dat passieve gevoeligheid voor tuberculine met behulp van overenten met levende cellen met name door lymphocyten kon plaats hebben. Zij spoten tuberculine-ongevoelige caviae intra-peritoneaal en intraveneus in met exsudaat-cellen uit de buikholte, lymphklieren, milt of bloed, afkomstig van tuberculine-ongevoelige caviae.

De hiermede ingespoten caviae werden na 1-3 dagen voor tuberculine gevoelig welke gevoeligheid 4-5 dagen bleef bestaan. Alleen levende exsudaat-cellen waren in staat de gevoeligheid voor tuberculine over te brengen.

Door vele onderzoekers zijn deze waarnemingen bevestigd (Griep* en Pepys*.)

Van de verschillende cel-soorten die van belang zijn voor een passieve overdracht schijnen de mononucleaire cellen de belangrijkste te zijn.

Wesslen gebruikte in zijn proeven voor de passieve overdracht van gevoeligheid voor tuberculine bij caviae een lymphocyten-suspensie afkomstig van de lymfhe van de ductus thoracicus en meent dat deze lymphocyten in de weefsels van de ontvanger de antilichamen vormen.

Kourilsky et. al. konden ook de passieve gevoeligheid bij caviae verwekken met behulp van entingen van menselijke leucocyten. Zij stelden vast dat van milt en lymphklieren de kleine rijpe lymphocyten het grootste deel der cellen vormden, welke werden overgeënt.

Van de andere kant bleven verschillende pogingen om met behulp van uit neutrophiele cellen bestaande peritoneale exsudaten passieve overdracht te verkrijgen zonder resultaat. Kirchheimer et. al.

Men heeft zowel bij de mens als bij het dier na niet specifieke (Röntgen-bestraling, A.C.T.H., cortison, nitrogen mustard) en specifieke (tuberculine i.v.) desensibilisaties een daling van het aantal circulerende lymphocyten waargenomen, Pepys*. In deze periode bleek de gevoeligheid voor tuberculine te zijn verminderd.

Lawrence* toonde bij de mens de passieve overdracht voor tuberculine-gevoeligheid aan met behulp van leucocyten, welke hij met de methode van Minor en Burnett uit het bloed van tuberculine-gevoelige personen verkreeg. Ook Urbach, Sones en Israël slaagden hierin.

Lawrence nam echter twee verschillen waar t.o.v. het dier-experiment. Het eerste verschil is de veel langere tijdsduur van twee tot drie maanden, waarin de tuberculine-gevoeligheid bij de mens blijft bestaan. Ten tweede lukte het hem ook met injecties

* Deze schrijvers geven een uitvoerig literatuuroverzicht.

van niet levende leucocyten, welke n.l. met gedistilleerd water of door herhaald bevriezen en ontdooien waren verscheurd, passieve gevoeligheid voor tuberculine bij de mens over te brengen, hetgeen Chase o.a. in het dier-experiment niet was gelukt.

Nu het duidelijk werd dat de passieve overdracht van de tuberculine-gevoeligheid op deze manier gelukte, rees de vraag welke stof hiervoor verantwoordelijk was.

Lawrence vond dat de passieve overdracht bij de mens ook tot stand kwam, nadat het sediment van de suspensie van de verscheurde leucocyten behandeld was met desoxyribonuclease of ribonuclease.

Lawrence besloot hieruit dat de passieve overdracht van tuberculine-gevoeligheid niet afhankelijk was van gepolymeriseerd desoxyribonucleïne of ribonucleïne zuurbestanddelen, welke stoffen een belangrijk aandeel zouden hebben in de antilichaam-synthese.

De hypothesen die als mogelijke verklaring van de tuberculine-reactie naar voren gekomen zijn betreffen de volgende alternatieven.

a) De tuberculine-reactie berust op de aanwezigheid van antilichamen, maar dat zijn dan niet de vrije circulerende antilichamen (onmogelijkheid van overdracht met serum) maar antilichamen die aan lymfoïde cellen zijn gebonden. Als variant hierop kan dan gelden de hypothese dat het gaat om antilichamen die overgebracht worden door lymfoïde cellen, maar die zich verder in het bindweefsel aan componenten van de bindweefseltussenstof zouden hechten (Keuning).

Als tweede variant hierop kan gelden de hypothese van Lawrence dat de transfer-factor een stof is die aan lymfoïde cellen gebonden is en die mogelijkerwijze tot autoreproductie in staat zou zijn, wanneer zij door lysis vrij gekomen is en door andere cellen wordt opgenomen.

b) De tuberculine-reactie zou berusten op een cellulaire allergie van lymfoïde cellen, d.w.z. een specifiek en door sensibilisatie verkregen vermogen van lymfoïde cellen om op het tuberculine op andere wijze te reageren. De aanknopingspunten hiervoor zijn vooral de waarnemingen dat lymfoïde cellen van tuberculeuze of tuberculine-gevoelige normale personen in vitro op contact met tuberculine reageren met cytolyse (Lawrence *).

De theoretische mogelijkheden zijn hiermede niet uitgeput en geen van deze hypothesen geeft op dit moment een afdoende verklaring van bekende feiten.

3) *De rol van antilichamen bij de tuberculine-reactie.*

a. *Bij de vroege fase van de tuberculine-reactie.*

In die gevallen waarbij de vroege fase optreedt nemen Pepys en Miles aan dat deze berust op een reactie tussen de polysaccha-

riden van de tuberkel-bacillen en de daartegen ontstane antilichamen. Waar deze antilichamen ontstaan is onbekend. In het algemeen geldt echter voor deze circulerende antilichamen het volgende:

Rich et. al. namen waar dat er in de milt na sensibiliseren van een proefdier met vreemd eiwit, dezelfde mononucleaire cel-oophopingen ontstaan als bij het klinische beeld van de sepsis met milt-zwelling en hij noemde deze cellen de „acute splenic tumor cells”.

Howell had dit in lymphklieren gezien en tevens kunnen vaststellen dat dan hierin meer antilichamen aanwezig zijn dan elders in het lichaam. Deze cellen nu hebben verschillende namen gekregen en werden door Rich en Wintrobe als lymphocyten beschouwd.

Rich et. al, Ehrlich et. al, Dougherty, Chase en White menen aangetoond te hebben dat deze cellen antilichamen vormen.

Door weefsel-kweek-experimenten bewees Fragaesus dat antilichamen in miltweefsel gevormd worden.

Hier te lande bestudeerden Keuning, van der Slikke en Thorbecke dit probleem ook met behulp van weefsel-cultures. Zij menen dat het de plasmacellen zijn, in het bijzonder de onrijpe plasmacellen, welke de antilichamen (gamma-globuline) vormen.

b. Bij de late fase van de tuberculine-reactie.

Wanneer antistoffen, in het serum aanwezig, verantwoordelijk zouden zijn dan moest men met dit serum de reactie kunnen overbrengen hetgeen niet gebeurt. Wanneer het om antilichamen gaat betreft het dus niet circulerende antilichamen. Onderzoekingen bij patiënten met agammaglobulinaemie (Good en Varco) suggereren dat het onvermogen van deze patiënten antilichamen te produceren op een antigene prikkel gekoppeld zou kunnen zijn aan hun gebrek aan plasmacellen. Zij beschrijven tevens het ontbreken van de vertraagde vorm van allergie bij zulke patiënten t.o.v. het tuberculine. Met behulp van de leucocyten van een voor tuberculine gevoelige donor lukte het wel bij deze patiënten een tuberculine-gevoeligheid te verwekken. Het blijkt dus dat volgens deze waarnemingen patiënten die niet in staat zijn antilichamen te vormen, ook niet tot een vertraagde vorm van allergie gesensibiliseerd kunnen worden. Porter evenwel gaf aan een patiënt met een congenitale agammaglobulinaemie BCG-vaccin, waarna deze wel voor tuberculine gevoelig werd. In het serum bleef de Choucrountest op antilichamen tegen de polysacchariden van de tuberkel-bacil negatief. Met de leucocyten van deze patiënt werd bij een tuberculine-ongevoelige normale receptor een positieve tuberculine-reactie verkregen. Deze waarneming zou dus suggereren dat het mechanisme van het verwekken of overbrengen goed kan functioneren bij een gemis van het vermogen serum-antilichamen te vormen. Belangwekkend maar niet gemakkelijk te verklaren is de waarneming van Gell en Hinde. Zij bestudeerden de histologie van het Arthus

phenomeen en zochten naar een verband met de vertraagde reactievorm van de huid.

Wanneer weinig antigeen parenteraal werd ingespoten en daarna met een kleine hoeveelheid van dit antigeen i.c. een allergische reactie werd veroorzaakt, waren zij in staat een proces te verwekken dat eigenlijk biphasisch verloopt; een acute en een vertraagde fase.

Zij toonden aan dat de directe fase een antigeen-antilichaam-reactie is welke zich vooral als een vaatreactie manifesteert met alle gevolgen van dien en waarbij in het serum de antistoffen aanwezig zijn.

Hiernaast is de vertraagde fase welke uit een mononucleaire celreactie bestaat welke cellen de „vrije” antistoffen produceren (gamma-globuline). Vanaf de 3e tot de 6e dag namen zij waar dat deze mononucleaire celophopingen over waren gegaan tot onrijpe en rijpe plasmacellen.

Bij de tuberculine-reactie zelf is deze overgang van lymphocytachtige cellen in plasmacellen slechts sporadisch te zien. Zij beschouwden de tuberculine-reactie daarom als een incomplete immunisatie-reactie waarbij dus de mononucleaire cellen van het perivasculaire infiltraat het niet volledig brengen tot antilichaamvorming.

Het verschil in verloop bij de tuberculine-reactie en dit Arthus phenomeen zou men kunnen zoeken in het al of niet ontstaan van plasmacellen die antilichamen aan het serum afgeven.

Samenvatting van het verloop en mechanisme van de tuberculine-reactie.

Op grond van de uiteengezette gedachten kan men zich het beloop van de positieve tuberculine-reactie als volgt voorstellen: De tuberculine-reactie is een overgevoeligheids-reactie.

Na het inbrengen van het tuberculine begint het fixeren hiervan aan het weefsel binnen de tien minuten en is in een à twee uur bij een matige hoeveelheid tuberculine voltooid. Inmiddels is een acute fase van vasodilatatie ontstaan met een geringe exsudatie van polynucleaire cellen. Sommigen beschouwen deze reactie als aspecifiek (trauma, tuberculine), Miles daarentegen als specifiek (reactie polysaccharide). Hierdoor worden cellen via de bloedbaan aangevoerd en is de vasodilatatie welke men heel in het begin ziet een hulp-mechanisme om mononucleaire cellen uit de bloedbaan in verhoogd aantal aan te voeren en tuberculine af te voeren. Het reticulo-endotheliale systeem dat terplaatse aanwezig is gaat woekeren en zal mede de antilichamen bevattende cellen leveren.

Wanneer deze opeenhoping van mononucleaire cellen in voldoende mate geschied is om een hoeveelheid antistoffen te produceren, voldoende om het terplaatse gebonden tuberculine te neutraliseren, kan men spreken van een positieve tuberculine-reactie. Deze is dan ook macroscopisch te zien en te palperen (infiltraat).

De tijd die nodig is om de mononucleaire celophoping terplaatse van de tuberculine-injectie te verkrijgen is de aanleiding om te spreken van een „vertraagde reactie”. De antilichamen, hierbij betrokken, zouden aanwezig kunnen zijn in de alpha-globuline-fractie (Cole en Favour).

§ 4 DE TUBERCULINE-REACTIE BIJ DE ZIEKTE VAN BESNIER-BOECK.

a. De frequentie van het voorkomen van tuberculine-ongevoeligheid.

In de literatuur worden hierover zeer uiteenlopende mededelingen gedaan.

De criteria die men voor het wel of niet gevoelig zijn gebruikt worden vaak niet opgegeven of verschillend geïnterpreteerd. Bovendien blijkt de Boeck-patiënt een wisselende gevoeligheid voor tuberculine tijdens zijn ziekte te kunnen vertonen.

Leitner geeft in een samenvattend artikel de bevindingen van vele auteurs weer. Enkele hiervan en anderen willen wij vermelden (Zie tabel I).

Bjørnstad vond in 70,4 % voor 10 T.U., 38 % voor 100 T.U. en 12,7 % voor 1000 T.U. negatieve tuberculine-reacties.

Bonnevie en Bjørnstad in 86,7 % voor 1 T.U.

Danbolt in 74 % voor 10 T.U.

Elshout in 82,6 % negatieve reacties van von Pirquet.

Kissmeyer in 60 % voor 10 T.U.

Leitner in 100 % voor 0,1 T.U., 100 % voor 1 T.U., 64 % voor 10 T.U. en 50 % voor 100 T.U. en 80 % voor 1000 T.U.

Löfgren in 87 % voor 1 T.U. en 47 % voor 100 T.U.

Lomholt in 72 % voor 100 T.U. negatieve tuberculine-reacties.

Longcope 65 % voor 10 T.U., 40 % voor 100 T.U. en 27 % voor 1000 T.U.

Martenstein zag in 85 % voor 10 T.U. negatieve Mantoux-reacties.

Pautrier in 65,5 % negatieve reacties van von Pirquet.

Reisner in 60 % voor 100 T.U. en 28,5 % voor 1000 T.U.

Turiaf verkreeg bij 41 patiënten in 93 % een negatieve reactie van von Pirquet.

Ten Have zag in zijn reeks van 156 patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck in de klassieke gevallen van de ziekte 71 % negatieve tuberculine-reacties (reactie van von Pirquet en Mantoux 10 T.U.). In 19,5 % van de klassieke gevallen waren de tuberculine-reacties wisselend positief en negatief. Dit percentage wisselende reacties wordt door Löfgren opgegeven in 15 %, door Hagn-Meinck in 7,6 % en door Schmid (Verzamel-statistiek) in 6,1 %.

b. De interpretatie van de negatieve tuberculine-reactie bij de ziekte van Besnier-Boeck.

Alvorens hiertoe over te gaan zouden wij een korte inleiding op het vraagstuk van de negatieve tuberculine-reactie bij de ziekte van Besnier-Boeck willen geven.

TABEL 1. Percentages negatieve tuberculine-reacties bij de ziekte van Besnier-Boeck.

Schrijvers	aantal patiënten	reactie van von Pirquet	0,1 T.U.	1 T.U.	10 T.U.	100 T.U.	1000 T.U.
Bjørnstad	71						
Bonnevie en Bjørnstad	45			86,7 o/o	70,4 o/o	38 o/o	12,7 o/o
Danbolt	61	89 o/o			74 o/o		
Elshout	86	82,6 o/o					
Ten Have	112	71 o/o			71 o/o		
Kissmeyer	82				60 o/o		
Leitner	36	100 o/o	100 o/o	100 o/o	64 o/o	50 o/o	80 o/o ^{*)}
Löfgren	56			87 o/o		47 o/o	
Lomholt	49					72 o/o	
Longcope	74					40 o/o	27 o/o
Martenstein	58	69 o/o			65 o/o		
Pautrier	87	65,5 o/o			85 o/o		
Reisner	35						
Turiaf	41	93 o/o				60 o/o	28,5 o/o

*) Dit onderzoek had slechts bij een klein aantal van de patiëntenreeks plaats.

De ziekte van Besnier-Boeck heeft een pathologisch-anatomisch substraat van een niet verkazende epitheloïde cellen-structuur met reuscellen van Langhans, het geheel door lymphocyten omgeven. Deze structuur van granulomateuze ontsteking komt nog bij andere ziekten voor zoals b.v. lues, tuberculose, Kala-azar, lepra, ziekte van Bang, beryllium-vergiftiging. Het is de groep van de granulomateuze ontstekingen, welke mede gekarakteriseerd worden door het ontwikkelen van een cellulaire allergie welke thuis behoren in de groep van de tuberculine-allergie of wel de vertraagde vorm van allergie (Lawrence). Deze vorm van allergie treedt hierbij spontaan alléén op tegenover het ziekte-verwekkend agens.

Het zou nu merkwaardig zijn dat de patiënt met de ziekte van Besnier-Boeck, waarvan het pathologisch-anatomische beeld met dat van de groep van bovengenoemde aandoeningen overeenkomt, juist deze vorm van allergie zou missen.

Wanneer de ziekte van Besnier-Boeck niets met de tuberculose te maken heeft dan mag men een negatieve tuberculine-reactie verwachten en bestaat er geen probleem. Moeilijkheden komen pas wanneer de patiënt met tuberkel-bacillen in aanraking is geweest, vervolgens de ziekte van Besnier-Boeck krijgt en zijn positieve tuberculine-reactie negatief wordt. Deze moeilijkheid blijft wanneer zijn ziekte door de tuberkel-bacillen zou worden veroorzaakt. Men kan zich voorstellen dat bij een positieve tuberculine-reactie er verschillende momenten zijn waarop deze reactie in zijn beloop verstoord kan worden en negatief wordt.

1) Wanneer bij de tuberculine-reactie het tuberculine in de huid wordt gebracht, dan zal het zich terplaatse moeten binden, wil het niet met het weefselvocht worden afgevoerd. Wanneer deze binding niet plaats heeft kan het verloop van de tuberculine-reactie verstoord zijn en van positief, negatief worden. Ditzelfde kan geschieden wanneer men het tuberculine door een versnelde afvoer belet om zich te binden. Dit kan geschieden door aan het te injiceren tuberculine bij de Mantoux-test stoffen mede in te spuiten welke een versterkte aanvoer geven van weefsel-vocht door versterkte vasodilatatie (Pepys). De binding terplaatse kan men versterken door stoffen die het tuberculine zelf binden, mede te injiceren. In het laatste geval treedt 72 uur na de i.c. injectie wel een positieve tuberculine-reactie op welke zelfs versterkt kan zijn (Seeberg). Hij nam bij 8 patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck met een negatieve Mantoux-reactie 100 T.U. waar dat 6 x de depot-tuberculine-reactie positief was. Hij meent dat hierdoor de latent positieve reactie manifest is geworden. Volgens Seeberg is de antilichamen-titer bij de patiënt met de ziekte van Besnier-Boeck laag. De routine-Mantoux-reactie verloopt negatief omdat het tuberculine is afgevoerd vooraleer de reactie kan plaats hebben. Bij het depot-tuberculine blijft het tuberculine terplaatse aanwezig. Nu kunnen een aantal circulerende cellen de geringe hoeveelheid antilichamen die zij bevatten in contact brengen met het intracutane tuberculine-depot en een reactie geven. James en Pepys namen bij

13 van de 19 tuberculine-ongevoelige patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck positieve depot-tuberculine-reacties waar en Citron bij 9 van de 11 patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck welke ongevoelig waren voor 100 T.U.

2) Het aanwezig zijn van stoffen die het ingebrachte tuberculine neutraliseren. Men heeft deze stoffen de naam gegeven van „anticutine” (Martenstein) of „tuberculoclastin” (Wylie). Bij de tuberculine-neutralisatie-test zal hier nader op worden ingegaan.

3) Na het inbrengen van het tuberculine zou de directe fase van de reactie in de zin van Miles niet of versterkt plaats hebben. Wanneer deze directe vorm van allergie zou ontbreken en geen vasodilatatie zou plaats hebben is de mogelijkheid aanwezig dat hierna een stoornis kan optreden in de aanvoer van mononucleaire cellen. De aangevoerde mononucleaire cellen vormen met de terplaatse van de tuberculine-injectie aanwezige mononucleaire cellen het infiltraat dat men bij een positieve tuberculine-reactie uiteindelijk waarneemt. De mogelijkheid bestaat dat de directe fase van de tuberculine-reactie door gamma-globuline versterkt kan worden en daardoor een versnelde afvoer van tuberculine bevordert. De tuberculine-reactie wordt dan vanzelf negatief. Een afremmen van deze versterkte reactie kan een betere plaatselijke binding van het tuberculine geven met als gevolg een positieve tuberculine-reactie. Men zou de door Pyke en Scadding vermelde resultaten aldus kunnen verklaren.

Zij zagen het positief worden van de tuberculine-reactie op de vierde dag van cortisone-therapie bij patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck. Na de 18e dag verdwenen deze weer. De positieve tuberculine-reacties verschenen vlugger en verdwenen sneller dan gebruikelijk is. 10 patiënten met negatieve Mantoux 100 T.U. werden na 100 mgr. cortisone i.m. onderzocht, bij 6 traden positieve reacties op. Cortisone aan tuberculine toegevoegd en mede i.c. geïnjecteerd bij 12 tuberculine-ongevoelige patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck, gaf 7 x een positieve tuberculine-reactie. De positieve tuberculine-reactie wordt juist negatief na cortisone-toediening, lokaal zowel als algemeen, bij patiënten die aan andere aandoeningen lijden. Pyke en Scadding namen bij 3 patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck met positieve tuberculine-reacties hetzelfde verschijnsel waar. Bij normale tuberculine-ongevoelige personen werd geen verandering door cortisone hierin verkregen. Citron geeft nog als verklaring op een betere plaatselijke tuberculine-binding door de cortisone-werking en daardoor versterking van de reactie.

4) Wanneer het vermogen om cellulaire antilichamen te produceren niet aanwezig is (of verloren is gegaan). De vraag doet zich dan voor in hoeverre deze antilichamen te vergelijken zijn met de „transfer-factor” van Lawrence en de subfractie (IV-10) alpha-globuline van Cole en Favour.

5) De tuberculine-reactie zou ook kunnen uitblijven tengevolge van een blokkering van de werking van de alpha-globuline-fractie (IV-10) door gamma-globuline, al staat het mechanisme van de werking van deze (IV-10) fractie niet vast.

6) Bij lymphopenie zijn er onvoldoende mononucleaire cellen aanwezig die op het ingebrachte tuberculine terplaatse in voldoende aantal kunnen gaan reageren. Bij desensibilisatie met tuberculine zou dit een rol spelen (Pepys).

c. Enkele hypothesen welke voor de negatieve tuberculine-reactie bij de ziekte van Besnier-Boeck zijn opgesteld.

1. Er zijn auteurs o.a. Turiaf, Löfgren, Wylie, Kveim, Danbolt, die zich op het standpunt stellen dat de ziekte van Besnier-Boeck (Nelson spreekt over het syndroom van Besnier-Boeck), met het mycobacterium tuberculosis niets te maken heeft. Zij vinden het daarom vanzelfsprekend dat de tuberculine-reactie negatief is. Merkwaardig blijft dan toch het feit dat er vele patiënten zijn met de ziekte van Besnier-Boeck met negatieve tuberculine-reacties welke Röntgenologisch resten vertonen van een verkalkende primaire tuberculose en vóórdien wel voor tuberculine gevoelig waren. Citron en Scadding namen dit 17 x (35 %) in hun patiëntenreeks waar.

2. Seeberg veronderstelt dat de plaatselijke tuberculine-binding te kort van duur is om een reactie te kunnen geven. Met behulp van een depot-tuberculine verloopt de tuberculine-reactie wel positief. De tijd is nu aanwezig om een groot aantal cellen met weinig antilichamen de gelegenheid te geven met het gebonden tuberculine te reageren. De proeven van Seeberg zijn door James en Pepys evenals door Citron bevestigd.

3. J. Jadassohn heeft om de hoge frequentie van negatieve tuberculine-reacties bij de ziekte van Besnier-Boeck te verklaren de theorie opgesteld van de z.g. „positieve anergie”. Deze berust op een hypothese dat de ziekte van Besnier-Boeck zou worden veroorzaakt door het mycobacterium tuberculosis. De patiënt met de ziekte van Besnier-Boeck zou in zeer hoge mate immuun zijn t.o.v. het mycobacterium. De lijder zou zo snel met de binnendringende tuberkel-bacillen afrekenen, dat deze niet meer aantoonbaar zijn. Alleen het pathologisch-anatomisch substraat zou nog als rest van de strijd overblijven. De allergische reactie na het binnendringen van tuberkel-bacillen zou bij deze hoge immuniteit niet normaal verlopen. Ingebrachte tuberculine zou snel terplaatse worden geëlimineerd. J. Jadassohn noemt dit een „positieve anergie”. De patiënt met de ziekte van Besnier-Boeck zou daarom niet op tuberculine reageren.

„In Gegensatz zu dieser Form der Anergie, die als specifieke oder positieve bezeichnet wurde und die eine besondere Form der Immunität darstellt, kommt es bei der negatieven Anergie bei nicht infizeerden oder bei Kachektischen nicht zur Reaktion, weil der Organismus nicht mit den Tuberculin zu reagieren vermag." Een positieve vorm van anergie zoals J. Jadassohn zich deze voorstelde, een hoge immuniteitsgraad waarbij tevens een ongevoeligheid t.o.v. tuberculine bestaat, kan ook experimenteel verwekt worden.

Deze kan o.a. worden bereikt door specifieke desensibilisatie met behulp van tuberculine of met BCG-vaccinaties.

Rich desensibiliseerde tuberculeuze caviae met s.c. tuberculine-injecties en nam t.o.v. de controle-groep een verhoogde resistentie tegenover de tuberkel-bacil waar. Duprez gaf aan caviae frequente BCG-vaccinaties. Deze dieren werden dan voor tuberculine gevoelig; deze gevoeligheid nam toe, om daarna te verminderen en uiteindelijk geheel te verdwijnen. Hierna infecteerde hij de caviae met een virulente stam tuberkel-bacillen en deze dieren gingen niet dood, terwijl de controle-groep na 4 à 5 maanden overleed aan een algemene verkazende tuberculose.

Rothschild en Birkhaug hebben deze proeven bevestigd.

Fernbach heeft de positieve vorm van anergie bij de mens het eerste aangetoond. Hij behandelde kinderen welke leden aan long-tuberculose met kuren van i.v. toegediende tuberculine en meende goede resultaten waar te nemen.

1 mgr. i.c. ingespoten dode tuberkel-bacillen waren na 41 dagen niet meer aantoonbaar, wanneer de patiënt voor tuberculine ongevoelig was geworden. Wanneer er nog reactie op tuberculine bestond, dan waren nog tuberkel-bacillen te vinden.

De Assis in Zuid-Amerika ziet iets soortgelijks met BCG-vaccinatie. Aanvankelijk werd deze alleen toegepast bij tuberculine-ongevoelige zuigelingen in een besmette omgeving, doch later ook bij jonge volwassenen, ongeacht hun wel of niet gevoelig zijn voor tuberculine.

Er worden grote hoeveelheden gegeven tot b.v. 1.19 gr. BCG-vaccin per os in korte tijd. Men noemt deze methode de „vaccinação concorrente", omdat de vaccinatie gelijktijdig verloopt met de natuurlijke besmetting. Vele personen verliezen dan hun gevoeligheid voor tuberculine en blijkens de medegedeelde resultaten bereiken zij een hoge graad van immuniteit.

Deze verminderde gevoeligheid voor tuberculine, waargenomen bij patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck, is ook door Martenstein verklaard als het gevolg van een specifieke vernietiging van het tuberculine, door de werking van bepaalde tuberculine-neutraliserende factoren, de z.g. anticutine. Dit woord is afkomstig van W. Jadassohn en Martenstein.

Wylie noemt deze aspecifieke tuberculine-neutraliserende factor „tuberculo-clastin". Deze zou in de epitheloïde cellen van het granuloma geproduceerd worden. Een deel ervan blijft aan de cellen gebonden en in de actieve fase van de ziekte van Besnier-

Boeck wordt een deel afgegeven aan het serum. Daar volgens hem de ziekte van Besnier-Boeck zelf niet door het mycobacterium tuberculosis wordt veroorzaakt, wordt ook geen tuberculoclastine gebonden. Bij het verrichten van de Mantoux-test wordt een geringe hoeveelheid tuberculine ingebracht dat snel door de circulerende of aan het weefsel gebonden tuberculoclastine wordt overwonnen. Het „tuberculoclastin“ zou ook bij andere aandoeningen waarvan het pathologisch-anatomisch substraat bestaat uit epitheloïde cellen-granulomen, geproduceerd worden. Het zou een niet specifieke factor zijn. Uit zijn onderzoekingen blijkt dat deze factor thermolabiel is, door pepsine van sojabonen niet wordt vernietigd en daarom niet identiek is met het fibrolysiene van Salvesen.

4. Friou gaf in 1952 een verslag van zijn onderzoekingen bij Besnier-Boeck-patiënten over de vertraagde huid-reacties welke tot dezelfde groep behoren als de tuberculine-reactie. Hij nam t.o.v. een controle-groep significante verschillen waar in gevoeligheid bij huidtests t.o.v. bofantigeen, oidiomycine en kinkhoest-antigeen. Reacties op trichophytine waren niet significant minder frequent in zijn onderzoek.

Sones en Israël vonden wel een significant verschil in reactie op trichophytine in hun onderzoek bij patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck t.o.v. normale controle-personen. Na kinkhoest-vaccinatie, waarbij een normale titer van circulerende antilichamen werd verkregen, reageerden maar 9 van de 20 Boeck-patiënten met een vertraagde huid-gevoeligheid, welke echter maar tijdelijk was en na enkele maanden verdween. Uit de literatuur (Flosdorf en Felton) is bekend dat normale personen in 92 % à 100 % na vaccinatie wel gevoelig werden. De ongevoeligheid voor tuberculine en andere antigenen, welke een vertraagde huid-reactie geven, zien Sones en Israël dan ook meer in de zin van een gemis aan cellulaire antilichamen. Het is niet bekend of dit gebrek berust op een aanmaak dan wel op een transportstoornis van deze antilichamen.

Citron vond bij 30 patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck in 18 % 100 T.U. positief en in 40 % oidiomycine positief. Een controle-groep van 60 personen was voor oidiomycine in 90 % positief en voor tuberculine 80 % (100 T.U.).

Urbach, Sones en Israël konden bij voor tuberculine-ongevoelige Boeck-patiënten en tuberculine-ongevoelige controle-personen een plaatselijke tuberculine-gevoeligheid verkrijgen door middel van passieve levende leucocyten-overdracht, welke leucocyten afkomstig waren van voor tuberculine gevoelige personen. De intracutane ingebrachte levende leucocyten, afkomstig van tuberculine-ongevoelige B.B.-patiënten, bij tuberculine-ongevoelige controle-personen veranderde in hun gevoeligheid niets. De voor tuberculine gevoelige proefpersonen bleven na de cel-overdracht voor tuberculine onveranderd gevoelig. De tuberculine-anergie bij patiënten lijdende aan de ziekte van Besnier-Boeck zou volgens hen het beste verklaard kunnen worden door de hypothese van een

gebrek aan antilichaamvorming of van het vervoer hiervan.

5. Bij patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck is een verhoogd gamma-globuline-gehalte frequent aanwezig. Cole en Favour namen waar dat gamma-globuline de werkzaamheid van alpha-globuline-subfractie (IV-10) als transfer-factor van vertraagde vorm van allergie kon remmen. De blokkering van de factor (IV-10) door het gamma-globuline zou een verklaring kunnen zijn voor de negatieve tuberculine-reactie bij de ziekte van Besnier-Boeck. In dat geval zou men mogen verwachten dat men met behulp van gamma-globuline elke positieve tuberculine-reactie negatief kan doen verlopen.

6. Leitner neemt de volgende hypothese aan om het te hoge percentage negatieve tuberculine-reacties bij de ziekte van Besnier-Boeck te verklaren. De tuberculine-reactie is een antigeen-antilichaam-reactie. Het tuberculine zelf is geen „echt” antigeen maar slechts een „hapteen”, dat in het lichaam tot een „vollantigeen” wordt gecombineerd. Volgens Leitner gebeurt dit terplaatse van de tuberculine-applicatie, door antigene substanties afkomstig uit het r.e.s. Deze specifieke antigene substanties zouden in het r.e.s. ontstaan bij de afbraak van de tuberkel-bacillen. In het r.e.s. treedt nu een antigeen-antilichaam-reactie op. Indien het verloop van deze reactie nu zodanig is dat geen antigeen overblijft dan treedt er terplaatse van de tuberculine-applicatie geen completering op van het tuberculine-antigeen tot een „vollantigeen”. De tuberculine-reactie verloopt in dat geval negatief. Zou een completering nog wel optreden dan zou de tuberculine-reactie toch negatief kunnen verlopen door afwezigheid van voldoende hoeveelheid antilichamen in de circulatie. Beide mogelijkheden houdt hij open ter verklaring van de frequent negatieve tuberculine-reactie bij de ziekte van Besnier-Boeck. Vaak is de binding antigeen-antilichaam in het r.e.s. onvolledig, waaruit door Leitner zwak positief verlopende tuberculine-reacties verklaard worden. Een tuberculine-omslag van negatief naar positief, wanneer de ziekte van Besnier-Boeck geneest, verklaart hij door aan te nemen dat dan voldoende antilichamen terplaatse van hun ontstaan overblijven. Deze kunnen dan voor de tuberculine-reactie beschikbaar zijn.

Van de factoren welke een negatieve tuberculine-reactie zouden kunnen geven zullen wij de volgende nader onderzoeken.

1. Getracht zal worden eventuele niet specifieke tuberculine-neutraliserende stoffen aan te tonen in het serum van de patiënt met de ziekte van Besnier-Boeck (normale controle-personen). Men kan dit met behulp van tuberculine-neutralisatie-testen doen. Zie aldaar.

2. In het verloop van de tuberculine-reactie zullen wij trachten een primaire reactie in de zin van Miles aan te tonen.

a) Bij normale voor tuberculine gevoelige personen.

- b) Bij normale voor tuberculine ongevoelige personen.
- c) Bij patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck.
In het kort samengevat zou men een stoornis in de tuberculine-reactie mogen verwachten wanneer:
 - a) Het tuberculine niet terplaatse gebonden wordt.
 - b) Er z.g. anticutine aanwezig is al of niet met verhoogde immuniteit.
 - c) De „directe” vorm van reactie in de zin van Miles afwezig of versterkt is.
 - d) De transfer-factor ontbreekt.
 - e) De transfer-factor geremd wordt.
- f) Mononucleaire cellen in onvoldoende aantal beschikbaar zijn.

B. DE TUBERCULINE-NEUTRALISATIE-TEST

§ 1 INLEIDING.

J. Jadassohn verklaarde de negatieve tuberculine-reactie van de ziekte van Besnier-Boeck door middel van een z.g. positieve anergie waaronder men een goede immuniteit met negatieve tuberculine-reacties verstaat.

Martenstein en W. Jadassohn meenden dat dit verschijnsel veroorzaakt werd door in het bloed circulerende antistoffen, de z.g. „anticutinen”.

Pickert en Löwenstein hadden deze anticutinen reeds eerder in het serum van lijders aan tuberculose die met tuberculine behandeld waren aangetoond. Serum van deze patiënten met tuberculine gedurende 24 uur in de broedstoof bewaard, gaf een verzwakt tot opgeheven tuberculine-reactie, wanneer zij vergeleken werd met de reactie voor dezelfde hoeveelheid i.c. geïnjecteerde tuberculine bij dezelfde proefpersonen (receptor). Men noemt deze methodiek de tuberculine-neutralisatie-test.

Fellner vond in het blaarvocht dat spontaan soms optreedt boven een Mantoux-reactie bij personen die voor tuberculine zeer gevoelig zijn, stoffen die de tuberculine-reactie versterkten. Deze worden „procutinen” genoemd.

Zowel het anti- als het procutine zouden nu volgens W. Jadassohn en Martenstein in het serum voorkomen bij personen die voor tuberculine gevoelig zijn. De anticutinen zijn thermolabiel en gaan dus bij verhitten verloren, daarentegen zijn de procutinen thermostabiel. De in het serum aanwezige procutinen kunnen pas hun werkzaamheid vertonen wanneer zij op kamertemperatuur gedurende enige tijd met tuberculine gemengd gestaan hebben. Het is volgens hun een chemolysine dat uit tuberculine een protuberculopyrine zou vormen dat overgaat in tuberculopyrine. Deze laatste stof zou een veel giftiger werking hebben dan tuberculine en dus terplaatse van de i.c. injectie een sterkere reactie geven dan het tuberculine alleen. Met het serum van patiënten met tuberculose werd de tuberculine-neutralisatie-test gebruikt om beter de prognose te kunnen stellen. Daarna deed zij eveneens

dienst om de tuberculeuze aetiologie van een destijds en nu in dit opzicht duistere aandoening als b.v. die van de ziekte van Besnier-Boeck aan te kunnen tonen.

Bij alle proeven moet men er echter steeds op bedacht zijn dat de receptor ook een invloed heeft.

Wij willen thans nagaan welke gegevens de literatuur ons over de anti- en procutinen kan verschaffen zonder enige aanspraak te willen maken op volledigheid. Vele van deze waarnemingen werden gedaan toen men de tuberculose nog behandelde met oud tuberculine.

Wij zullen nagaan of de gegevens uit de literatuur en door eigen onderzoek verkregen te begrijpen zijn met behulp van de theorie van de tuberculine-reactie.

§ 2 DE TUBERCULINE-NEUTRALISATIE-TEST UITGEVOERD MET SERA VAN VERSCHILLENDE PATIENTEN.

a. patiënten lijdende aan tuberculose en tuberculine-gevoelige normale personen.

Singer controleerde de proeven van Pickert en Löwenstein en kon bij 14 patiënten met een actieve tuberculose en 2 gezonde tuberculine-gevoelige personen geen tuberculine-neutraliserende stoffen aantonen, daarentegen wel in het serum van 18 andere gezonde personen met positieve tuberculine-reacties. Zij rekent roodheid zonder induratie nog tot de positieve tuberculine-reactie en leest na 24 uur af. Met verzwakking van de reactie houdt zij geen rekening alleen met volledige opheffing van de tuberculine-werking.

Kirch en Szigeti vonden bij 85 patiënten met tuberculose in 14% een versterkte, in 33% gelijke reactie, in 25% een verzwakking en in 28% een complete neutralisatie van de tuberculine-werking.

Pinner, Weiss en Cohen toonden bij patiënten met een actieve vorm van tuberculose geen anticutinen aan. Zij waren in staat bij patiënten met een afnemende activiteit van het tuberculeuze proces in 8 %, stationair proces in 14 % en bij de genezen vorm van tuberculose in 12 % de z.g. anticutinen in hun serum aan te tonen (Het totale aantal patiënten bedroeg 168).

Normale personen (62) met een positieve tuberculine-reactie vertoonden in 3 % positieve tuberculine-neutralisatie-testen.

Brieger en Landau vonden bij hun 5 patiënten 4 x een geringe tuberculine-neutralisatie.

Frisch en Silberstein zagen soms een verzwakking van de tuberculine-test, soms een versterking en meestal echter geen veranderde reactie door inwerking van het serum op het tuberculine. Zij kunnen de theorie van W. Jadassohn en Martenstein niet bevestigen.

Hämel toonde in 248 tuberculine-neutralisatie-testen, verricht met het serum van 4 patiënten lijdende aan tuberculose, in 39 % anticutinen aan. Hij nam echter ook een enkele maal een verster-

king van de tuberculine-reactie waar. Volgens hem vond Gergely in 15 % een versterking, 15 % gelijke reactie, 60 % een verzwakking en 10 % een volledige neutralisatie.

W. Jadassohn en Martenstein toonden bij patiënten die leden aan een actieve vorm van longtuberculose anticutinen in hun serum aan.

Dünner en Horowitz kunnen wel anticutine aantonen, maar andere stoffen zoals pleura-exsudaten, caseïne-oplossing en colloïdaal ijzer hebben dezelfde werking. De tuberculine-neutralisatie-test is volgens hen meer een fysisch dan een biologisch verschijnsel dat veroorzaakt wordt door de colloïdale „Schutzkörpern” van het eiwit.

Römer en von Hote zien in de tuberculine-neutralisatie wel een prognostisch gunstig teken bij patiënten lijdende aan oogtuberculose.

Moral en Sarbadhikary evenals Treu kunnen dit voor patiënten lijdende aan longtuberculose niet bevestigen al zien zij verzwakkingen van de tuberculine-reactie. Morel en Sarbadhikary nemen hetzelfde effect waar, wanneer serum vervangen wordt door koemelk.

Samenvatting:

De tuberculine-neutralisatie treedt op met het serum van lijders aan tuberculose. De frequentie waarmede dit geschiedt wisselt van 60 % (Gergely) tot 39 % (Hämel) tot 0 bij actieve tuberculose (Pinner e.a.).

Velen leiden van de tuberculine-neutralisatie de aandacht af door te wijzen op het feit dat er ook wel eens een versterkte reactie kan optreden, hetgeen de hele methodiek waardeloos zou maken. Als criterium voor een verzwakte reactie eist Singer volledige neutralisatie, Pinner e.a., Wells en Wylie verzwakking tot 50 % of minder, zodat de uitkomsten welke men opgeeft niet steeds te vergelijken zijn. Andere schrijvers vermelden helemaal geen criterium. Het serum van normale personen met een positieve tuberculine-reactie is in staat de tuberculine-werkzaamheid te verzwakken.

Van de 20 personen vond Singer in 90 % een neutralisatie. Pinner e.a. vonden dit in 3 % van de 62 personen.

Enkele schrijvers delen de resultaten van controle-proeven mede, waarbij het serum door andere eiwitten of een colloïdaal ijzerpraeparaat werd vervangen. Zij namen verzwakkingen van de tuberculine-reactie waar en twijfelen aan het bestaan van z.g. specifieke „anticutinen”.

Pickert en Löwenstein wijzen al op de invloed die de proefpersoon (receptor) op de tuberculine-neutralisatie-test heeft. Wells en Wylie benadrukken dit.

Wat bij de ene receptor een verzwakking geeft, kan bij een andere zelfs een versterking van de tuberculine-reactie veroorzaken.

b. patiënten lijdende aan tuberculose die met tuberculine behandeld zijn.

Hierbij hebben Pickert en Löwenstein voor het eerst de tuberculine-neutraliserende stoffen in het serum aangetoond, welke later door W. Jadassohn en Martenstein de naam anticutinen kregen.

Pickert en Löwenstein vermelden dat met het serum van 3 patiënten tuberculine-neutralisatie-testen 104 x werden uitgevoerd. In 0.01 % trad een versterkte reactie op, in 16 % was er een gelijke reactie als bij de controle-tuberculine-reactie, in 24 % een goed waarneembare verzwakking, in 25 % een duidelijke verzwakking en in 35 % een volledige neutralisatie.

Fernbach kan bij deze patiënten geen anticutinen aantonen in de zin van Pickert en Löwenstein. Ook aan Bessau lukte dit niet.

Hamburger en Monti daarentegen hebben steeds bij patiënten die met tuberculine waren behandeld anticutinen kunnen aantonen. Normale personen met negatieve tuberculine-reacties werden door hen met tuberculine-injecties behandeld. De sera bezaten hierna geen tuberculine-neutraliserende factoren.

Kirsch en Szigeti behandelden 16 patiënten met tuberculine-injecties en vergeleken de resultaten van de tuberculine-neutralisatie-test voor en na de behandeling. In 20 % trad een versterkte neutralisatie op, in 40 % veranderde deze niet en in 40 % was het neutraliserend effect verzwakt en soms trad zelfs een versterkte tuberculine-reactie op. Zij menen dat de z.g. anticutinen van Pickert en Löwenstein geen specifieke anti-lichamen zijn en de methode zelf geen gegevens verschaft over de prognose van de tuberculeuze aandoening.

Gergely vond wel anticutinen maar daarnaast vooral tuberculine-reacties die gelijk of soms versterkt waren.

Samenvatting:

Bij lijdens aan tuberculose die met tuberculine behandeld zijn zien Pickert en Löwenstein, Kirch en Szigeti positieve tuberculine-neutralisatie-testen. Niet allen bevestigen dit (Fernbach, Bessau).

c. normale personen, die niet voor tuberculine gevoelig zijn.

Pickert en Löwenstein konden in de door hen onderzochte sera geen anticutinen aantonen. Pinner, Weiss en Cohen in 9.1 % (22 personen).

Hämel vond in 28 % positieve tuberculine-neutralisatie-testen welke 473 x werd uitgevoerd met het serum van vier personen.

Hamburger en Monti vonden bij deze personen geen anticutinen.

Wells en Wylie toonden bij negen tuberculine-neutralisatie-testen van 3 personen 1 x anticutinen aan.

Samenvatting:

Ook in het serum van tuberculine-ongevoelige personen komen

soms stoffen voor die de tuberculine-werking neutraliseren. Pinner et. al. in 9,1 %, Hämel in 28 %, Pickert en Löwenstein, Hamburger en Monti vonden hierbij geen anticutine in het serum.

d. patiënten lijdende aan de ziekte van Besnier-Boeck.

W. Jadassohn en Martenstein onderzochten het serum van vier tuberculine-ongevoelige patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck, en toonden anticutinen aan. Zij vermeldten echter uitdrukkelijk, dat dit verloop van de reactie afhankelijk is, niet alleen van de serumeigenschappen van de te onderzoeken persoon, doch ook van het tijdstip waarop de reactie wordt afgelezen en bovendien van de reactie van de receptor (proefpersoon).

Wat bij de ene proefpersoon een versterkende werking heeft, veroorzaakt bij de andere een verzwakte reactie.

Kissmeyer en Schultz vonden in het serum van 9 patiënten lijdende aan de ziekte van Besnier-Boeck, viermaal een tuberculine-neutraliserende eigenschap, terwijl in de overige vijf gevallen geen verzwakking maar een versterking aanwezig was.

Zij besluiten op grond van hun proeven dat met deze methodiek geen bewijs kan worden geleverd voor het bestaan van een tuberculeuze aetiologie van de ziekte van Besnier-Boeck.

Rubin en Pinner toonden bij slechts één van de 26 patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck anticutinen aan.

Pinner, Weiss en Cohen vonden bij vier van de elf patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck anticutinen.

Hämel deed met het serum van 7 patiënten 350 tuberculine-neutralisatie-testen en nam in 4 % versterkte, in 71 % gelijke en in 25 % verzwakte tuberculine-reacties waar.

Leitner kan in het serum van 21 patiënten lijdende aan de ziekte van Besnier-Boeck geen anticutinen aantonen. Schröpl deed dezelfde ervaring op bij 13 patiënten.

Met het serum van 11 tuberculine-ongevoelige patiënten werd door Wells en Wylie een fraaie neutralisatie van het tuberculine waargenomen. Het bleek hun echter dat patiënten in een inactief stadium van de aandoening hun tuberculine-neutraliserend vermogen verloren hadden.

Wells en Wylie menen op grond van het voorkomen van het neutraliserend vermogen van het serum van gezonde personen, het afwezig zijn hiervan in het serum bij de inactieve vorm van de ziekte van Besnier-Boeck en de invloed van de proefpersoon, dat voor een routine-gebruik deze methodiek ongeschikt is.

Zeer merkwaardig zijn de uitkomsten van tuberculine-neutralisatie-testen verricht met het gamma-globuline van een patiënt met de ziekte van Besnier-Boeck. Tien- en zelfs honderdvoudige verdunningen hiervan leverden een aanzienlijk neutraliserend vermogen op. De andere globulines en het albumine bezitten deze eigenschap niet of maar in zeer geringe mate. Z.g. normaal menselijk gamma-globuline neutraliseert geen tuberculine. Deze eigenschap van gamma-globuline afkomstig van een patiënt met de ziekte van

Besnier-Boeck ging verloren bij verhitten gedurende een uur op 65 graden C.

Samenvatting:

De resultaten van de tuberculine-neutralisatie-testen met het serum van patiënten lijdende aan de ziekte van Besnier-Boeck uitgevoerd, lopen nogal uiteen. Leitner, Rubin en Pinner namen de neutralisatie slechts bij uitzondering waar, terwijl Wells en Wylie bij de actieve vorm van de ziekte van Besnier-Boeck fraaie neutralisaties vermelden. Wanneer de aandoening inactief wordt vermelden zij het verdwijnen van dit verschijnsel. Gamma-globuline van de patiënt met de ziekte van Besnier-Boeck zou steeds het tuberculine neutraliseren. Bij wijze van uitzondering trad in de met het serum uitgevoerde testen een versterkte reactie op.

e. patiënten lijdende aan andere aandoeningen.

Kirch en Szigeti zagen met het serum van 59 patiënten die niet aan tuberculose leden (pneumonieën, sepsis, asthma enz.) in 14 % een versterkte tuberculine-reactie, in 39 % gelijke en in 20 % verzwakte en in 27 % complete neutralisatie.

Wylie nam waar dat serum afkomstig van patiënten lijdende aan Kala-azar ook het vermogen bezit de werkzaamheid van tuberculine te neutraliseren.

§ 3 DE TUBERCULINE-NEUTRALISATIE-TEST UITGEVOERD MET BLAARVOCHT, AFKOMSTIG VAN POSITIEVE TUBERCULINE-REACTIES.

Brieger en Landau namen steeds verzwakkingen waar van de tuberculine-reactie na toevoeging van blaarvocht van een positieve tuberculine-reactie.

Hämel nam proeven met blaarvocht uit twee sterk positief verlopende tuberculine-reacties. Dit serum gemengd met tuberculine gaf in 41 % een verzwakking en in 24 % een versterking van de tuberculine-reactie.

§ 4 HET AANTONEN VAN „PROCUTINE” IN BLAARVOCHT, PAPEL-SERUM OF EEN WEEFSELSUSPENSIE VAN EEN POSITIEVE TUBERCULINE-REACTIE.

Het gelukte Fellner om met blaarvocht afkomstig van een sterk positieve tuberculine-reactie, een versterking van de tuberculine-reacties te verkrijgen. Hij beschrijft dat hiermede zelfs bij personen, welke voor tuberculine ongevoelig waren, tijdelijk een passieve gevoeligheid kon worden verwekt. Hij besluit hieruit dat er procutinen in het blaarvocht aanwezig zijn, welke tevens kunnen worden overgebracht.

Martenstein en Schapiro vinden in blaarvocht van een posi-

tieve tuberculine-reactie stoffen, welke deze reactie kunnen versterken.

Wichman kon niet steeds procutinen aantonen en betwijfelt of het wel kenmerkende stoffen zijn.

Hoke en Lang verkregen versterkte reacties uit het secreet van positieve Pirquet-reacties. Zij bereikten echter hetzelfde resultaat met het weefselvocht uit andere reacties verkregen en met melk.

Zij menen dat het secreet van positieve tuberculine-reacties dan ook geen kenmerkende eigenschappen bezit.

Klemperer en Peschic, Bessau en Köhler, Stukowski kunnen geen procutinen aantonen.

Gottlieb meent dat de reactie versterkt wordt door het in het blaarvocht achtergebleven tuberculine.

Thomas en Arnold brachten cantharidine in collodium gemengd op positieve Mantoux-reacties. In het hieruit verkregen blaarvocht konden zij in 67 % procutinen aantonen. Hiernaast namen zijn controle-proeven. In blaarvocht afkomstig uit door crotonolie verkregen infiltraten waren deze procutinen niet aanwezig.

Hämel nam naast versterkte ook gelijke en verzwakte tuberculine-reacties waar, na mengen van tuberculine met blaarvocht uit positieve tuberculine-reacties verkregen.

Samenvatting:

In het vocht van de blaren die soms boven positieve tuberculine-reacties ontstaan toonde Fellner stoffen aan die de tuberculine-reacties versterken.

Door Martenstein en Schapiro, Hoke, Lang, Gottlieb, Thomas en Arnold is dit bevestigd. Door andere onderzoekers zoals o.a. Klemperer en Peschic is dit ontkend.

Fellner kan met dit blaarvocht bij tuberculine-ongevoelige personen een positieve tuberculine-reactie verkrijgen, ook zonder hieraan tuberculine toe te voegen.

Het tuberculine kan n.l. nog op en in de blaar aanwezig zijn. Het blaarvocht zou de „transfer-factor” van Lawrence kunnen bevatten.

§ 5 HET AANTONEN VAN „PROCUTINEN” IN SERUM.

Het procutine en anticutine zou in het serum van iedere persoon welke voor tuberculine gevoelig is volgens W. Jadassohn en Martenstein voorkomen. Door het serum te verhitten op 56 graden C. zou het thermolabiele anticutine inactief worden.

Het procutine kan in de broedstoof op het tuberculine inwerken en hieruit tuberculopyrine vormen. Deze laatste stof zou veel giftiger zijn en een grotere werkzaamheid dan het tuberculine bezitten. Frisch en Silberstein, Moral en Sobadhiary kunnen dit bevestigen.

In hun proeven met tuberculine vermengd met serum na 24

uur staan vermelden Pickert en Löwenstein al dat zij met het niet verhitte serum van één patiënt met tuberculose, versterkingen van de tuberculine-reacties waarnamen.

Dezelfde waarneming deed Hämel met serum afkomstig van 8 normale voor tuberculine ongevoelige personen, 5 patiënten lijdende aan tuberculose en 7 lijdende aan de ziekte van Besnier-Boeck.

Dit nam hij waar wanneer het mengsel van tuberculine en verhit serum direct werd ingespoten en eveneens indien dit na 24 uur bewaren plaats vond.

§ 6 DE INVLOED VAN DE PROEFPERSOON (RECEPTOR) OP DE TUBERCULINE-NEUTRALISATIE-TEST.

Pickert en Löwenstein die deze test als eersten bewust deden, vermelden al de invloed van de proefpersoon (receptor). Zij kunnen een verschillende neutralisatie-grens hebben.

W. Jadassohn en Martenstein deden deze ervaring eveneens op.

Wells en Wylie merken op dat patiënten met actieve tuberculose als receptoren fungerend, minder neutraliseren dan tuberculine-gevoelige personen zonder progressieve tuberculose.

Kirch en Szigeti constateren het feit dat het serum-tuberculinemengsel hetwelk bij de ene reeks receptores neutraliserend werkt, bij een andere groep een versterkte reactie geeft.

C. EIGEN ONDERZOEK

§ 1 INLEIDING.

Na i.v. injecties van blauwe kleurstoffen, methyleenblauw, pontamine-blue en Evans-Blue, is getracht de vroege fase bij de tuberculine-reactie aan te tonen (Miles).

Wij deden dit bij personen met positieve en negatieve tuberculine-reacties en patiënten met een actieve vorm van de ziekte van Besnier-Boeck met een negatieve tuberculine-reactie.

Wij deden tuberculine-neutralisatie-testen met het serum van normale personen die wel en normale personen die niet voor tuberculine gevoelig zijn en van patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck in een actieve fase en met een inactieve vorm van de aandoening.

Naast deze tuberculine-neutralisatie-testen welke met serum werden verricht, werden met het z.g. normale gamma-globuline van het centrale laboratorium van het Nederlandsche Roode Kruis Bloedtransfusiedienst en gamma-globuline (bereid volgens van Mullen) afkomstig van twee onbehandelde tuberculine-ongevoelige (10 T.U.) patiënten met een actieve vorm van de ziekte van Besnier-Boeck deze testen uitgevoerd.

Tevens werden bij de proeven met blauwe kleurstoffen, mengsels van gamma-globuline met tuberculine i.c. ingespoten om te zien of er tussen deze en de tuberculine-reactie een macroscopisch

waarneembaar verschil zou optreden. Mocht er geen macroscopisch verschil aanwezig zijn, dan zou dit bij microscopisch onderzoek alsnog te voorschijn kunnen komen. Daarom werd 20 en 90 minuten na de i.c. injectie en na 72 uur, de injectieplaats uitgeponst en microscopisch onderzocht.

Dit gebeurde na de injectie van tuberculine, gamma-globuline en mengsels gamma-globuline-tuberculine.

§ 2 DE TUBERCULINE-REACTIE.

a. het macroscopische beeld van de vroege fase van de tuberculine-reactie (Miles) en haar eventuele beïnvloeding door gamma-globuline.

Met behulp van 2 % methyleen-blauw-oplossing, Evans-blue en pontamine-blue, hebben wij geprobeerd een eventueel optredende reactie van Miles aan te tonen. Direct na de i.c. injecties respectievelijk van tuberculine-oplossing (Mantoux 1/1000) 0,1 cc. isotonisch gamma-globuline, 0,1 cc. histamine-oplossing 0.01 mgr. per cc. en het mengsel van gamma-globuline + tuberculine werd methyleen-blauw 10 cc. 2 % i.v. toegediend.

Het Evans-blue en pontamine-blue werd eerst geïnjecteerd en 10 minuten er na werden de i.c. injecties verricht.

Bij vijf personen met een positieve, vijf personen met een negatieve tuberculine-reactie en bij vijf tuberculine-ongevoelige patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck werd deze methode toegepast. Het bleek dat na enkele minuten de i.c. injectie-plaatsen van de histamine-oplossing, gamma-globuline van normale personen en patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck fraaie diffuus blauwe verkleuringen vertoonden. Deze blauwe verkleuringen traden ook op indien de bovengenoemde oplossing van gamma-globuline gemengd was met tuberculine. De tuberculine-reactie bleef kleurloos ook nadat de overige injectieplaatsen hun blauwe verkleuring hadden verloren. Dit was meestal het geval na ongeveer een half uur, de ene keer iets vroeger, de andere keer iets later.

Er werd 1 x een versterkte reactie waargenomen, 3 x een gelijke, 4 x een verzwakking van de reactie en er trad 12 x een volledige neutralisatie van de tuberculine-reactie op.

De versterkte reactie vertoonde aanvankelijk in haar centrum een witte kern met er omheen een blauwe schil, direct na de i.v. injectie van het methyleen-blauw.

b. het histologisch onderzoek van de vroege en late fase van de tuberculine-reactie.

Histologisch onderzoek van Mantoux-reacties werd bij de volgende patiënten, waarbij tevens Evans-blue i.v. was ingespoten, verricht.

1. Vijf personen die een negatieve tuberculine-reactie hadden (10 T.U.)

2. Vijf personen met een positieve tuberculine-reactie (10 T.U.)
3. Vijf patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck, welke ongevoelig waren voor tuberculine (10 T.U.).

Dit onderzoek werd met opzet bij patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck met een „negatieve” tuberculine reactie verricht. Het zou kunnen zijn dat bij hen de blauwe verkleuring van de Mantoux-reactie uitbleef en bij de tuberculine-gevoelige normale personen wel zou voorkomen. In dat geval zou het uitblijven van de reactie bij de patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck een verklaring kunnen zijn voor het negatieve verloop van de tuberculine-reactie.

Bij elk van deze personen werd gelijktijdig een serie Mantoux-reacties verricht n.l. 3 x met 10 T.U. en 3 x met 100 T.U.

Na 20 en 90 minuten en na 72 uur werden deze injectie-plaatsen voor histologisch onderzoek uitgeponst.

1. Bij 5 tuberculine-ongevoelige personen werd 20 minuten na injectie 3 x een geringe reactie gezien van polynucleaire cellen in en om enkele capillairen. Negentig minuten na de injectie werd 7 x een reactie gezien van polynucleaire cel-infiltraten, welke meer of minder in omvang waren.

Bij 10 T.U. 3 x en bij 100 T.U. 4 x

Na 72 uur werd nog 7 x een polynucleaire cel-reactie waargenomen bij 10 T.U. 4 x bij 100 T.U. 3 x.

De celophopingen waren vaak minimaal en steeds minder omvangrijk dan in de praeparaten van de injectieplaats verkregen 90 minuten na de tuberculine-injectie.

2. Bij de 5 voor tuberculine gevoelige personen werd 20 minuten na de Mantoux-reactie op de injectieplaats eenmaal een geringe reactie gezien van polynucleaire cellen in en om enkele capillairen. Na 90 minuten waren deze 9 x aanwezig bij 10 T.U. 4 x en 100 T.U. 5 x.

Na 72 uur waren bij alle personen fraaie infiltraties van mononucleaire cellen aanwezig.

3. Bij de 5 patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck werd op de injectieplaats 20 minuten na het verrichten van een Mantoux-reactie 2 x een gering polynucleair cel-infiltraat gezien.

Na 90 minuten werd 9 x een reactie waargenomen van polynucleaire cel-infiltraten. 10 T.U. 4 x en 100 T.U. 5. x.

Na 72 uur werden nog 6 x resten van polynucleaire cel-infiltraatjes waargenomen. Bij een patiënt waren enkele mononucleaire cellen om de capillairen verschenen.

c. het histologisch onderzoek van de injectieplaatsen van de mengsels tuberculine + gamma-globuline.

Met een vers mengsel bestaande uit gamma-globuline van een Besnier-Boeck-patiënt + tuberculine in een verhouding als boven beschreven, werd gelijktijdig een serie van drie i.c. huid-reacties verricht.

a. Bij twee personen met een negatieve tuberculine-reactie (10 T.U.).

- a. Bij twee personen met een negatieve tuberculine-reactie.
 - b. Bij vijf personen met een positieve tuberculine-reactie (10 T.U.)
 - c. Bij twee lijdens aan de ziekte van Besnier-Boeck met negatieve tuberculine-reacties (10 T.U.).
- Bij deze personen werden de injectieplaatsen na 20 en 90 minuten en na 72 uur uitgeponst.

Eenzelfde reeks injecties werd gegeven bij dezelfde personen van een mengsel isotonisch z.g. normaal gamma-globuline van het Centrale Laboratorium van het Nederlandsche Roode Kruis Bloed-transfusiedienst en tuberculine in een verhouding als boven beschreven.

1. *Het mengsel tuberculine + gamma-globuline van patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck.*

- a. Bij twee personen met een negatieve tuberculine-reactie.
- Na 20 minuten werden wat veel polynucleaire cellen in de capillairen gezien.
- Na 90 minuten is het aantal toegenomen en ook om de vaten en klieren gelocaliseerd.
- Na 72 uur zijn in één praeparaat wat rondcellen te voorschijn gekomen, in het andere bevinden zich alleen resten van polynucleaire cel-infiltraten.

- b. Bij de vijf voor tuberculine gevoelige personen (10 T.U.).
- Na 20 minuten werd 2 x een geringe reactie gezien van polynucleaire cellen in en om de capillairen.
- Na 90 minuten waren deze 4 x aanwezig.
- Na 72 uur waren bij alle personen fraaie infiltraten uit mononucleaire cellen opgebouwd aanwezig met hier en daar wat polynucleaire celophopingen.

- c. Bij twee patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck welke voor tuberculine ongevoelig zijn.
- Na 20 minuten wat polynucleaire cel-infiltraten.
- Na 90 minuten wat minder cellen.
- Na 72 uur werden geen veranderingen meer gezien.

2. *Het mengsel tuberculine + z.g. normaal gamma-globuline.*

Na 20 minuten werden in de injectieplaats wat veel polynucleaire cellen in de capillairen gezien.

Na 90 minuten was het beeld onveranderd.

Bij een persoon werd geen verandering meer gezien in het praeparaat van de injectieplaats 72 uur na de injectie. De andere persoon had in het subcutane vetweefsel wat rondcel-infiltraten.

- b. Bij vijf personen met een positieve tuberculine-reactie.

Na 20 minuten werden 1 x capillairen waargenomen met dui-

delijke extravasatie van polynucleaire cellen, die in een vrij groot aantal in de adventitia aanwezig zijn.

Na 90 minuten werden 4 x polynucleaire cel-infiltraten waargenomen.

Na 72 uur werden bij alle personen vooral uit mononucleaire cellen bestaande infiltraten gezien, met wat meer of minder polynucleaire cellen.

Er werd 3 x macroscopisch een versterking van de tuberculine-reactie waargenomen. Dit was 1 x het geval met een mengsel gamma-globuline Boeck-patiënt + tuberculine en 2 x met een mengsel z.g. normaal gamma-globuline + tuberculine.

De macroscopisch versterkte reacties van de mengsels gamma-globuline en tuberculine blijken nu die te zijn, waarbij histologisch de polynucleaire cel-infiltraten groter in omvang zijn dan bij de macroscopisch gelijk blijvende die het beeld geven van de mononucleaire cel-infiltraten.

c. Bij twee patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck, met negatieve tuberculine-reacties (10 T.U.).

Na 20 minuten werden terplaatse van de injectie om de capillairen wat polynucleaire celophopingen gezien.

Na 90 minuten slechts een paar polynucleaire cellen.

Na 72 uur een micro-abscesje bij een patiënt, bij de andere is geen reactie meer aanwezig.

d. controle-testen.

Deze werden uitgevoerd met:

1. Gamma-globuline in isotonische oplossing van patiënt B met de ziekte van Besnier-Boeck.

2. Z.g. normaal gamma-globuline (Centrale Laboratorium Bloed-transfusiedienst) in isotonische oplossing.

Deze werden verricht bij personen met een positieve en met een negatieve tuberculine-reactie en bij patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck met een negatieve tuberculine-reactie.

Bij al deze controles werden dezelfde reacties waargenomen, zowel macroscopisch als microscopisch.

Het microscopische beeld, 20 minuten na de injectie werd gekenmerkt door polynucleaire cel-infiltraten in en om de capillairen.

Na 90 minuten waren deze nog wat toegenomen.

Na 72 uur waren soms meerdere eosinophile cellen in de overwegend polynucleaire cel-infiltraten te onderscheiden.

§ 3 TUBERCULINE-NEUTRALISATIE-TESTEN.

a. Tuberculine-neutralisatie-testen verricht met serum (Tabel 2).

Bij de door ons verrichte tuberculine-neutralisatie-proeven werd de volgende techniek gebruikt.

Een deel oud tuberculine-oplossing 1/1000 werd gemengd met negen delen steriel serum van de te onderzoeken patiënt (donor). 0,1 cc.

TABEL 2. Tuberculine-neutralisatie-testen uitgevoerd met serum.

Serum afkomstig van:	Aantal donores	Receptor	Aantal receptores	Aantal T.N.T.*)	serum (0,9 cc) + O.T. 1/1000 (0,1 cc.), 0,1 cc. i.c.			Serum (0,9 cc) + O.T. 1/1000 (0,1 cc.) na 48 uur staan in broedstoof, 0,1 cc. i.c.			
					>	=	<	Aantal T.N.T.*)	>	=	<
normale personen 10 T.U. pos.	10	actieve tuberculose	10	26	2	20	4	25	2	18	5
		inactieve tuberculose	10	24	2	18	4	22	1	15	6
		normale personen 10 T.U. pos.	10	20	2	15	3	23	1	18	4
normale personen 10 T.U. neg.	10	actieve tuberculose	10	24	4	15	5	26	3	17	6
		inactieve tuberculose	10	25	3	17	5	24	2	17	5
		normale personen 10 T.U. pos.	10	21	2	15	4	20	2	14	4
patienten met een actieve vorm van de ziekte van Besnier-Boeck.	9	actieve tuberculose	10	14	1	6	7	14	1	6	7
		inactieve tuberculose	10	14	1	7	6	15	1	7	7
		observatie-patienten en normale personen. 10 T.U. pos.	10	14	0	7	7	14	1	7	6
patienten met een inactieve vorm van de ziekte van Besnier-Boeck	22	actieve tuberculose	20	45	7	11	27	32	6	13	13
		inactieve tuberculose	20	47	6	15	26	40	7	14	19
		observatie patienten en normale personen. 10 T.U. pos.	20	45	5	13	27	38	6	14	18

*) T.N.T. = tuberculine neutralisatie-test.

> = versterkte tuberculine-reactie.

= = gelijke tuberculine-reactie.

< = verzwakte tuberculine-reactie.

van dit mengsel werd hierna i.c. ingespoten bij een tuberculine-gevoelige persoon (receptor).

Nadat het mengsel 48 uur in de broedstoof had gestaan werd opnieuw i.c. 0,1 cc. ingespoten.

Controles werden op de zelfde wijze uitgevoerd. Inplaats van tuberculine werd steriel physiologisch zout aan het te onderzoeken serum toegevoegd.

Hiernaast werd de Mantoux-test verricht 0,1 cc. 1/10.000, teneinde waar te kunnen nemen hoe sterk deze was om als vergelijking dienst te doen.

Van alle reacties werd 72 uur na de i.c. injectie het infiltraat in mm. afgelezen. Als criterium voor het beoordelen van een versterkte of verzwakte reactie werd een verschil van meer dan 2 mm. met de controle-reactie vereist.

Edwards c.s. toonden aan dat een verschil van 2 mm. nog binnen de foutengrens van iedere geoefende aflezer lag.

Wij namen waar versterkte, gelijke en verzwakte reacties t.o.v. de controle-reactie. Deze drie reactie-vormen verliepen onafhankelijk van de aard van de testpersonen (lijders aan actieve en inactieve longtuberculose, observatie-patiënten met positieve tuberculine-reacties en tuberculine-gevoelige normale personen).

Een uitzondering hierop vormden twee patiënten met een genezende miliaire tuberculose (receptor), waarbij wij constant verzwakte reacties waarnamen.

De tuberculine-neutralisatie-testen met hun serum bij andere testpersonen verricht gaven echter naast overwegend gelijke en verzwakte ook enkele versterkte reacties. In tabel 2 zijn de resultaten van de tuberculine-neutralisatie-testen weergegeven.

De sera van 10 normale personen die een positieve tuberculine-reactie hadden, gaven met het verse mengsel van serum en tuberculine 6 x een versterkte, 53 x een gelijke en 11 x een verzwakte tuberculine-reactie.

Na 48 uur staan in een broedstoof gaven de mengsels serum + tuberculine 4 x een versterkte, 51 x een gelijke en 15 x een verzwakte tuberculine-reactie.

Van de sera van 10 normale personen met negatieve tuberculine-reacties, leverden de verse mengsels de volgende resultaten op:

Er werd 9 x een versterkte, 47 x een gelijke en 14 x een verzwakte tuberculine-reactie gezien.

Na 48 uur staan in de broedstoof leverden zij 7 x een versterkte, 48 x een gelijke en 15 x een verzwakte tuberculine-reactie op.

De sera van negen patiënten lijdende aan een actieve vorm van de ziekte van Besnier-Boeck werden voor tuberculine-neutralisatie-testen gebruikt. Direct na mengen ingespoten werd 2 x een versterkte, 10 x een gelijke en 19 x een verzwakte tuberculine-reactie gezien.

Nadat het mengsel gedurende 48 uur in een broedstoof had gestaan werd 3 x een versterkte, 20 x een gelijke en 20 x een verzwakte tuberculine-reactie gezien.

Bij 22 patiënten met een inactieve vorm van de ziekte van Besnier-Boeck werd met een vers serum-tuberculine-mengsel 18 x een versterkte, 30 x een gelijke en 80 x een verzwakte tuberculine-reactie waargenomen.

Nadat de mengsels 48 uur in de broedstoof hadden gestaan, gaven zij 10 x een versterkte, 41 x een gelijke en 50 x een verzwakte tuberculine-reactie. Met de controle-mengsels serum + fysiologisch zout werd na 72 uur in geen enkel geval een reactie waargenomen.

b. Tuberculine-neutralisatie-testen verricht met isotonische oplossingen gamma-globuline van twee niet behandelde tuberculine-ongevoelige patiënten welke leden aan een actieve vorm van de ziekte van Besnier-Boeck (patiënt A en B) en z.g. normaal gamma-globuline.

De gebruikte oplossingen werden als volgt bereid: een deel oud tuberculine 1/1000 werd gemengd met negen delen van een steriele isotonische gamma-globuline-oplossing. Hiervan werd 0,1 cc. i.c. ingespoten.

Hiernaast werd een Mantoux-test verricht 0,1 cc. 1/10.000 om als vergelijking dienst te kunnen doen.

De resultaten zijn in tabel 3 weergegeven.

a. Het gamma-globuline van patiënt A met de ziekte van Besnier-Boeck laat na 48 uur staan in de broedstoof fraaie neutralisaties zien. Als receptores fungeerden normale voor tuberculine

TABEL 3.

Tuberculine-neutralisatie-testen uitgevoerd met isotonisch gamma globuline										
gamma-globuline afkomstig van:	gamma-globuline (0,9 cc). + O.T. 1/1000 (0,1 cc.), 0,1 cc. i.c.					gamma-globuline (0,9 cc). + O.T. 1/1000 (0,1 cc.), na 48 uur staan in de broedstoof, 0,1 cc. i.c.				
	aantal T.N.T. ^{*)}	>	=	<	O	aantal T.N.T. ^{*)}	>	=	<	O
patiënt A, actieve Boeck.	0					16	0	0	9	7
patiënt B, actieve Boeck.	27	1	4	6	16	22	3	6	1	12
normale personen.	38	2	17	8	11	39	1	12	8	18

^{*)} T.N.T. = tuberculine-neutralisatie-test.

> = versterkte tuberculine-reactie.

= = gelijke tuberculine-reactie.

< = verzwakte tuberculine-reactie.

O = opgeheven tuberculine-reactie.

gevoelige personen en observatie-patiënten. De tuberculine-werking is 9 x verzwakt en 7 x opgeheven.

Een vers mengsel tuberculine + gamma-globuline van patiënt B gaf de volgende resultaten:

1 x een versterkte reactie, 4 x een gelijke reactie, 6 x een verzwakte reactie en 16 x een volkomen opgeheven reactie.

Wanneer het mengsel gamma-globuline van patiënt B + tuberculine in de broedstoof gedurende 48 uur werd bewaard en dan pas i.c. werd geïnjecteerd, kreeg men de volgende reacties: 3 x kwam er een versterkte reactie te voorschijn, 6 x was er een gelijke reactie aanwezig, 3 x was de tuberculine-reactie verzwakt, 12 x werd alle werkzaamheid van de tuberculine opgeheven.

b. De controle-proeven met gamma-globuline afkomstig van normale personen verliepen eigenlijk weinig anders. Als receptores fungeerden normale voor tuberculine gevoelige personen en observatie-patiënten.

Direct na het mengen met tuberculine en i.c. ingespoten zagen wij 1 x een versterkte, 12 x een gelijke tuberculine-reactie, 8 x een verzwakte en 18 x een opgeheven reactie, t.o.v. de controle-test.

Wanneer het mengsel tuberculine en gamma-globuline afkomstig van normale personen na 48 uur staan in de broedstoof i.c. werd ingespoten, kwam 2 x een versterkte, 17 x een gelijke, 8 x een verzwakte en 11 x een opgeheven tuberculine-reactie voor.

Samenvatting eigen onderzoek.

Met behulp van i.v. injecties van methyleen-blauw, Evans-blue noch met pontamine-blue is het in dit onderzoek bij de mens gelukt de vroege fase van de tuberculine-reactie aan te tonen.

Isotonische oplossingen van gamma-globuline van een patiënt met de ziekte van Besnier-Boeck en mengsels hiervan met tuberculine i.c. geïnjecteerd kleurden binnen enkele minuten diffuus blauw.

Dit geschiedde eveneens na injecties met een isotonische oplossing van z.g. normaal gamma-globuline alleen en gemengd met tuberculine.

Het histologisch onderzoek van de vroege fase van de tuberculine (Mantoux-) reactie liet geen verschil zien bij tuberculine-gevoelige en ongevoelige normale personen en patiënten met negatieve tuberculine-reacties welke leden aan de ziekte van Besnier-Boeck. Geringe polynucleaire celreacties in en om de vaten waren aanwezig. Na 72 uur waren bij de tuberculine-gevoelige personen fraaie monocyten-infiltraten terplaatse van de tuberculine-injectie aanwezig.

Isotonische gamma-globuline-oplossingen van normale personen en van een patiënt lijdende aan de ziekte van Besnier-Boeck gaven terplaatse van de i.c. injectie een polynucleaire celreactie.

Neutralisatie-testen welke met serum werden uitgevoerd hadden verschillende uitkomsten, alnaargelang de herkomst van het serum.

De sera van 10 normale tuberculine gevoelige en 10 normale tuberculine-ongevoelige personen lieten versterkte, gelijke en verzwakte reacties zien. Noch de versterkte, noch de verzwakte reacties waren in zo'n aantal aanwezig t.o.v. de gelijke dat van enige significantie gesproken mag worden.

Bij de neutralisatie-proeven uitgevoerd met het serum van patiënten welke leden aan een actieve of inactieve vorm van de ziekte van Besnier-Boeck was er wel een significantie in het aantal van de verzwakte tuberculine-reacties aanwezig. (Sign. $P. < 0,001$. Methode Wilcoxon). Met het gamma-globuline van normale personen en twee tuberculine-ongevoelige onbehandelde patiënten met een actieve vorm van de ziekte van Besnier-Boeck, waren naast enkele versterkte, fraaie volledig opgeheven tuberculine-reacties en verzwakte reacties aanwezig en wel in een significant aantal. ($P. < 0,01$).

Het bleek bij histologisch onderzoek dat de versterkte reacties die hierbij optraden, berustten op een toeneming van het polynucleaire cel-infiltraat en niet op het voor de positieve tuberculine-reactie kenmerkende mononucleaire cel-infiltraat.

§ 4 DISCUSSIE.

Het blijkt, dat de tuberculine-reactie bij patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck in ongeveer 2/3 der gevallen een negatief verloop heeft. De percentages worden voor 10 T.U. door verschillende onderzoekers uiteenlopend opgegeven (zie tabel I) 60 % (Kissmeyer) tot 85 % (Martenstein).

Beschreven is de opvatting over de tuberculine-reactie bij normale personen (blz. 15) en bij patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck (blz. 16).

Op blz. 18 zijn de mogelijkheden vermeld die een positieve tuberculine-reactie in zijn verloop kunnen storen.

Wij hebben bijzondere aandacht besteed aan de mogelijkheid dat de tuberculine-reactie reeds in zijn vroege fase verstoord zou kunnen worden. Het zou kunnen gebeuren dat de vroege reactie niet optreedt en tengevolge hiervan onvoldoende mononucleaire cellen terplaatse van de tuberculine-applicatie komen.

Treedt deze reactie te heftig op dan zou de plaatselijke binding van het tuberculine verstoord worden door de versnelde afvoer hiervan.

Wij hebben bij normale tuberculine-gevoelige en ongevoelige personen en tuberculine-ongevoelige patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck, de vroege fase door middel van blauw-proeven niet kunnen aantonen. Zo zij al berust op een antigeen-antilichaam-reactie tussen polysacchariden van de tuberkel-bacil en het hier tegen gerichte antilichaam, is het twijfelachtig of zij bij de normale tuberculine-reactie een rol speelt.

Volgens de gegevens uit de literatuur treedt tuberculine-neutralisatie met het serum van lijders aan tuberculose op in een per-

centage dat zeer wisselend wordt aangegeven. 60 % Gergely tot 30 % Hämel en weinig frequent bij Pinner e.a. Ook in het serum van normale tuberculine-gevoelige personen komen z.g. anticutinen voor. Singer vermeldde dit in 90 % en Pinner e.a. in 3 %. Tuberculine-ongevoelige normale personen zouden deze serumfactor in 9,1 % volgens Pinner e.a. bevatten, in 28 % volgens Hämel en helemaal niet voorkomen volgens Pickert en Löwenstein, Hamburger en Monti.

Bij patiënten met tuberculose die lang geleden met tuberculine werden behandeld hebben Pickert en Löwenstein de z.g. anticutinen aangetoond. Velen hebben dit kunnen bevestigen, anderen daarentegen hechten er geen waarde aan, daar andere stoffen aan het tuberculine toegevoegd eveneens de werking van het tuberculine kunnen verzwakken, o.a. Dünner en Horowitz.

Met het serum van patiënten die aan andere aandoeningen (sepsis, asthma) leden zagen Kirch en Szigeti in 47 %, Wells en Wylie in 30 % verzwakte tot opgeheven tuberculine-reacties. Bij lijders aan de ziekte van Besnier-Boeck welke in een actieve fase waren, toonden Wells en Wylie steeds anticutinen aan. In het inactieve stadium waren deze verdwenen. Gamma-globuline van een patiënt met de ziekte van Besnier-Boeck was steeds in staat de tuberculine-werking te neutraliseren. Leitner, Rubin en Pinner namen in het serum van hun patiënten slechts bij uitzondering anticutine waar. Af en toe kwam er wel eens een versterkte reactie voor.

In ons eigen onderzoek werden tuberculine-neutralisatie-testen uitgevoerd met het serum van normale tuberculine-gevoelige en ongevoelige personen. Het aantal optredende versterkte of verzwakte reacties zijn niet significant. Dit is wel het geval bij de tuberculine-verzwakkende werking van het serum van patiënten welke aan een actieve of inactieve vorm van de ziekte van Besnier-Boeck lijdten.

Ook met het gamma-globuline van het serum van twee niet behandelde tuberculine-ongevoelige lijders aan de ziekte van Besnier-Boeck treedt deze tuberculine-neutralisatie meestal op. Zg. normaal gamma-globuline is ook in staat de werkzaamheid van tuberculine te beïnvloeden.

De resultaten van de onderzoeken met i.v. injecties met kleurstoffen (methyleen-blauw, Evans-blue en pontamine-blue) verkregen, waarbij de isotonische gamma-globuline-oplossingen na i.c. injectie diffuus blauw verkleurden, geven echter steun aan de opvatting dat het hier om een op vasodilatatie en vergrote doorlaatbaarheid berustende versnelde afvoer van tuberculine gaat. Het is dan een specifiek effect.

Gamma-globuline gemengd met tuberculine kan macroscopisch een versterking van de tuberculine-reactie geven. In het histologisch onderzoek bleek deze echter te berusten op een toename van de polynucleaire cellen en niet op een toename van de voor de tuberculine-reactie kenmerkende mononucleairen.

Over de negatieve tuberculine-reacties bij de ziekte van Besnier-Boeck werd in het kader van ons eigen onderzoek geen nadere informatie verkregen. Zij wordt in de reeks van Ten Have bij de klassieke vorm van de ziekte van Besnier-Boeck in 71 % verkregen (10 T.U.).

Er wordt een relatie waargenomen tussen de tuberculine-reactie, het gamma-globuline en de bezinkingssnelheid der erythrocyten. Daalt deze laatste en bereikt het gamma-globuline-gehalte normale waarden dan stijgt de kans op een positieve tuberculine-reactie. Nog vermelden wij de waarnemingen van Urbach e.a. waarbij overgebrachte leucocyten van tuberculine-ongevoelige patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck bij tuberculine-ongevoelige normale personen niet in staat waren een positieve tuberculine-reactie te verwekken.

§ 5 CONCLUSIES.

1. De vroege fase van de tuberculine-reactie zoals deze door Miles bij caviae is beschreven, hebben wij bij de mens niet kunnen aantonen.
2. Tuberculine-neutralisatie is met serum zowel van normale personen als van patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck en ook met gamma-globuline te verkrijgen. Met het serum afkomstig van patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck is dit in significant sterker mate het geval.
3. Het neutraliserend effect op tuberculine van serum van normale personen en patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck of welke aandoening dan ook, zou kunnen berusten op een versnelde afvoer van het tuberculine. De uitkomsten van de kleurstofproeven maken dit aannemelijk. Het is dan een specifiek effect.
4. De zogenaamde procutine-activiteit van bepaalde sera moet, gezien het feit dat het hier een polynucleaire celreactie betreft in plaats van een monocyttaire zoals bij de tuberculine-reactie gebruikelijk is, vermoedelijk als een specifieke worden opgevat. De juiste aard hiervan is niet bekend.

LITERATUUR

1. *H. Aronson* Studien über Tuberculin. Arch. Kinderheilkunde. 1913:60:11.
2. *A. B. Baker* Complement fixation as related to resistance and allergy in experimental tuberculosis. Am. Rev. Tuberc. 1935:31:55.
3. *G. Bessau* Die Tuberculin überempfindlichkeit und die durch Tuberculin darreichung zu erzielende Tuberculin-empfindlichkeit. Jb. Kinderheilkunde. 1915:81:370 und 482.
4. *G. Bessau und O. Köhler* Zur Frage der Fellnerschen Papilsubstanzen. Jb. Kinderheilkunde. 1924:105:39.
5. *E. Brieger und W. Landau* Zur Einwirkung von Papelsubstanzen auf Tuberculin. Deutsche Med. Wochenschr. 1925:51:735.
6. *M. W. Chase* Development of antibody following transfer of cells taken from lymphnodes of sensitized or immunized animals. Federation Proceedings. 1951:10:404.
The cellular transfer of cutaneous hypersensitivity to tuberculin, Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 1945:59:134.
7. *K. M. Citron* Skin tests in sarcoidosis. Tubercle. 1957:38:33.
8. *L. R. Cole en C. B. Favour* Correlations between plasma-protein-fractions, antibody-titers, and the passive transfer of delayed and immediate cutaneous reactivity to tuberculin PPD and tuberculopolysaccharide. J. Exper. Med. 1955:101:391.
9. *L. Dienes* Histological studies of hypersensitive reactions. Am. Journal Path. 1932:8:689.
10. *F. F. Dougherty, J. C. Chase, A. White* The demonstration of antibodies in lymphocytes. Proc. Soc. Exper. Biol. and Med. 1944:57:295.
11. *L. Dünner und A. Horowitz* Die Verhinderung der Tuberculinreaktion durch Serum, Transudat und Exsudat. Berl. Klin. Wschr. 1921:58:665.
12. *N. J. Ehrenkranz and B. H. Waksman* Failure to transfer tuberculin sensitivity passively with plasma fractions containing alpha globulin. J. Exp. Med. 1956:104:935-945.
13. *B. Fellner* Ueberimpfungsversuche mit Pirquetschen Papelsubstanzen am Menschen. Wien-Klin. Wschr. 1919:38:937.
14. *H. Fernbach* Ueber langdauernde, ohne klinisch wahrnehmbare Herd- und Allgemein reaktionen durchgeführte Tuberculinkuren. Beit. z. Klinik der Tuberkulose. 1932:81:301.

15. *A. Fragraeus* Antibody production in relation to the development of plasma cells. *Acta Med. Scand. suppl.* 1948:204.
16. *J. Freud and E. L. Opie* Sensitization and antibody formation with increased resistance to tuberculosis infection induced by heatkilled tubercle bacilli. *Journ. Exp. Med.* 1938:68:273. *Journ. Ped.* 1934:5:475.
17. *A. V. Frisch und E. Silberstein* Studien zum Tuberculinproblem. *Beit. zur Klin. Tuberculose.* 1924:58:266.
18. *G. H. Gell en I. T. Hinde* Observations on the histology of the Arthus reaction and its relation to other know types of skin hypersensitivity. *Int. Arch. at.* 1954:5:23.
19. *Gergely* 6 Verslg. ung. Tbk. ärzte Debreczin 1924. Geciteerd volgens Hämel.
20. *K. Gottlieb* Untersuchungen mit dem Inhalte blasiger Tuberculin Cutanreaktionen. *Zeitschrift für die gesamte Experimentelle Medizin.* 1923:31:1.
21. *W. A. Griep* Tuberculine Reakties (Is nog niet gepubliceerd).
22. *F. Hamburger und R. Monti* Ueber Tuberculin immunität *Münch. Med. Woch.* 1910:57:1330.
23. *T. N. Harris, E. Grim, E. Mertens, W. Ehrlich* The role of the lymphocyte in antibody formation. *J. Exper. Med.* 1945:81:93.
24. *K. M. Howell* Origin of antibodies. *The Newer Knowledge of Bacteriology and Immunology.* University of Chicago. Press. 1928.
25. *J. Jadassohn* Die Tuberculiden. *Archiv. für Dermatologie und Syphilis.* blz. 10, 1914.
Einige Erfahrungen über lokale Reaktionen mit Moroscher Tuberculine Salbe bei Hauttuberculose.
Tuberculiden Syphiliden und Lupus erythematodes. *Arch. für Dermatologie und Syphilis.* 1912, blz. 488.
26. *W. Jadassohn und H. Martenstein* Ueber die Abschwächung der Tuberculin Wirkung durch Menschliches Serum. *Klin. Wschr.* 1923:2:1210.
27. *D. G. James en J. Pepys* Tuberculin in aqueous and oily solutions. *The Lancet.* 1956:1:602.
28. *F. J. Keuning and van der Slikke* The Role of immature plasma cells, lymphoblasts and lymphocytes in the formation of antibodies as established in tissue culture experiments. *Clin. med.* 38:167:1250.

29. A. Kirch und
B. Szigeti Zur Frage des sogenannten Neutralisationsphänomens bei Tuberculose.
Beit. zur Klin. Tbk. 1920:45:325.
30. W. F. Kirchheimer,
A. R. Hess and
R. G. Spears Attempts at passive transfer of tuberculin type of hypersensitivity with living granulocytes. Am. Rev. Tuberc. 1951:64:516.
31. Kissmeyer en
G. Schultz Untersuchungen über die sogenannten Antikutine und Prokutine im Serum von Sarkoidkranken. Derm. Zeitschrift. 1931:61:18.
32. F. Klemperer und
S. Peschic Zur Frage der Beziehungen zwischen Haut und Immunität. Deutsch. Med. Wschr. 1923:49:403.
33. Kourilsky,
R. G. Decroid en
P. Gante Etudes sur l'allergie tuberculinique. La transmission de l'allergie.
Rev. immunol. 1952:16:333.
34. K. Landsteiner and
M. W. Chase Experiments in transfer of cutaneous sensitivity to simple compounds.
Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 1942:49:688.
35. K. Landsteiner The Specificity of serological reactions rev. ad. Cambridge. 1947.
Harvard University Press.
36. H. S. Lawrence The cellular transfer of cutaneous hypersensitivity to tuberculin in man.
Proc. Soc. Exp. Biology and Med. 1949:71:516.
The transfer of general cutaneous hypersensitivity of delayed tuberculine type in man by means of constituents of disrupted leucocytes.
J. Clin. Investigation. 1954:33:951.
37. W. T. Longcope en
D. J. Freiman A study of sarcoidosis.
The Williams and Wilkins Company.
Baltimore 1952.
38. H. Martenstein und
B. Schapiro Zur Frage der Beziehungen zwischen Haut und Immunität Deutsch. med. Wschr. 1923:49:947.
39. A. A. Miles Early tissue reactions to tubercle bacilli and their products.
Experimental tuberculosis.
J. A. Churchill. London. 1955.
40. H. Moral und
Sarbadhikary Ist die Tuberculinreaktion eine Antigen-Antikörperreaktion? Deutsche Med. Wschr. 1924:50:1408.
41. J. Pepys The relationship of nonspecific and specific factors in the tuberculin reaktion. The. Am. Rev. of Tuberc. 1955:71:49.
42. M. Pickert and
E. Löwenstein Eine neue Methode zur Prüfung der Tuberculinimmunität.
Deutsche Med. Wochenschrift. 1908:2:2262.
43. M. Pinner, Weiss en
A. C. Cohen Procutins and Anticutins. Yale Journal of Biology and Medicine. 1942:1943:15:460.

44. D. A. Pyke en J. G. Scadding
Effect of cortisone upon skin sensitivity to tuberculin in sarcoidosis.
Brit. Med. Journal. 1952:2:1126.
45. S. Raffel, L. E. Arnoud, C. D. Dukes en J. S. Hwang
The role of the „wax“ of the tubercle bacillus in establishing delayed hypersensitivity; hypersensitivity to a protein antigen egg albumin.
J. Exper. Med. 1949:90:53.
46. A. R. Rich
The Pathogenesis of Tuberculosis.
Charles C. Thomas, Springfield, Illinois, 1951.
47. E. H. Rubin and M. Pinner
Sarcoidosis. The Am. Rev. of Tuberculosis. 1949:49:167.
48. E. Schröpl
Zur Aetiologie und Pathogenese der Boeckschen Krankheit.
Archiv. Für Dermatologie und Syphilis. 1942:183:545.
49. G. Seeberg
Tuberculin sensitivity in lymphogranulomatosis benigne. Studied with depot tuberculin.
Acta Dermato Venereologica. 1951:31:426.
50. F. B. Seibert
The history of the development of Purified Protein Derivate tuberculin.
Amer. Rev. Tuberc. 1941:44:1-8.
51. G. Singer
Ueber des Neutralisationsphänomen bei aktiver und inaktiver Tuberculose.
Jb. Kinderheilkunde. 1918:86:187.
52. J. Sorgo
Ueber die Beeinflussung der cutanen und intracutanen Tuberculin Reaktion durch Serum. Wien. Klin. Wschr. 1913:26:1827.
53. A. B. Stavitsky
Passive cellular transfer of the tuberculin type of hypersensitivity.
Proc. of the Society for experimental Biology and Medicine. 1948:67:225.
54. E. Thomas und W. Arnold
Blaseninhaltstoffe über spezifischen Reaktionen.
Münch. Med. Wschr. 1922:69:196.
55. G. J. Thorbecke
Over de vorming van antilichamen en gamma-globuline „in Vitro“ en bloedvormende organen. Proefschrift Groningen 1954.
56. J. Turiaf, J. Brun
La sarcoidose endothoracique de Besnier-Boeck-Schaumann.
Expansion Scientifique Francaise, 1955.
57. A. J. Wells and J. A. Wylie
A tuberculin neutralizing factor in serum of patients with sarcoidosis. Lancet 1949:1:439.

58. T. Wesslen

- a) Passive transfer of tuberculin hypersensitivity by viable lymphocytes from the thoracic duct. Acta tuberc. Scandinav. 1952:26:38.
- b) A histological study of the tuberculin reaktion in animals with passively transferred hypersensitivity. Acta tuberc. Scandinav. 1952:26:175.
- c) In vitro studies on tuberculin hypersensitivity of lymph cells. Acta dermat. venereol. 1952:32:195.
- d) Studies on the role of lymphocytes in antibody production. Acta dermat. venereol. 1952:32:265.

59. J. A. H. Wylie

Thesis Oxford University. 1948.

DE I.C. BCG-VACCINATIE

Inleiding.

Het percentage negatieve tuberculine-reacties bij patiënten, lijdende aan de ziekte van Besnier-Boeck wordt wisselend opgegeven. De meeste onderzoekers gaven een percentage op van 60-70 %. J. Jadassohn heeft om de hoge frequentie van negatieve tuberculine-reacties bij de ziekte van Besnier-Boeck te verklaren de theorie opgesteld van de z.g. positieve anergie. Deze berust op een hypothese dat de ziekte van Besnier-Boeck zou worden veroorzaakt door het mycobacterium tuberculosis, waarbij de patiënt een zeer hoge mate van allergie en immuniteit zou bezitten. De lijder zou zo snel met de binnendringende tuberkel-bacil afrekenen, dat deze niet meer aantoonbaar is. Alleen het pathologisch-anatomisch substraat zou nog als rest van de strijd waarneembaar zijn.

J. Jadassohn tracht de schijnbare paradox in de combinatie van tuberculine-ongevoeligheid met verhoogde immuniteit te verklaren door de z.g. positieve anergische vorm van allergie. „Der Organismus wird nämlich (um es grob auszudrücken) mit dem Tuberculin so rasch fertig, dasz es nicht oder nur zu einer schwachen Reaktion kommt. In Gegensatz zu dieser Form der Anergie, die als spezifische oder positieve bezeichnet wurde, und die eine besondere Form der Immunität darstellt kommt es bei der negativen Anergie bei nicht Infizierten oder bei Kachektischen nicht zur Reaktion, weil der Organismus nicht mit dem Tuberculin zu reagieren vermag.“

Lemming meent dat de theorie van J. Jadassohn te controleren is met behulp van BCG-vaccinatie bij voor tuberculine ongevoelige patiënten lijdende aan de ziekte van Besnier-Boeck.

Wij trachtten in navolging hiervan te achterhalen hoe bij tuberculine gevoelige en ongevoelige personen de i.c. BCG-vaccinatie verloopt wat betreft de plaatselijke reactie zowel macro- als microscopisch, en wat de invloed hiervan is op de gevoeligheid voor tuberculine. Wij hebben verder nagegaan of een bepaalde tijd na de i.c. BCG-vaccinatie nog tuberkel-bacillen in het praeparaat te vinden zijn. Wanneer de patiënt met de ziekte van Besnier-Boeck i.c. met het levende BCG-vaccin wordt gevaccineerd, zal bij een hoge graad van immuniteit het mycobacterium tuberculosis weinig kans krijgen zich terplaatse te vermeerderen, doch snel worden geëlimineerd.

Ook mag bij de door J. Jadassohn veronderstelde positieve anergie na de BCG-vaccinatie met levend vaccin, geen gevoeligheid voor tuberculine optreden.

§ 1 DE TOEGEPASTE TECHNIEK VAN DE BCG- EN ANDERE TUBERKEL-BACILLEN-VACCINATIES.

De scarificatie-methode werd door Sohier en Gregoire toegepast.

De „multiple puncture“-methode van Rosenthal werd door Amerikaanse onderzoekers gebruikt, b.v. Rosterberg et. al.

De eenvoudige intracutane injectie werd gebruikt door Lemming, Warfinge en Bjørnstad en zoals uit hun afbeeldingen te zien is, ook door Leider en Sulzberger, Bernstein en Spoor. Er werden verschillende BCG-vaccins gebruikt.

Het Zweedse BCG-vaccin werd door Lemming gebruikt. Israël et. al. vaccineerden met levend vaccin, afkomstig van The Henry Phipps Institute en Rosenthal verstrekke aan Rostenberg et. al. levend vaccin. Het vaccin, afkomstig van het „New York State Department of Health“, werd door Bernstein in levende vorm toegepast. Warfinge en Bjørnstad gebruikten dode tuberkel-bacillen. Bij Warfinge waren deze afkomstig van virulente humane tuberkel-bacillen, 1 x gebruikte hij deze in levende vorm.

Bjørnstad gebruikte het BCG-vaccin afkomstig van het bacteriologisch lab. van Sahlgrenska Sjukhuset, Gothenburg. Het werd gedurende 2 uur op 60 graden C. op twee opeenvolgende dagen verhit. De virulente humane en bovine tuberkel-bacillen werden geleverd door het Veterinaerinstituut, Oslo.

Na koken werden deze in een mortier fijn gewreven met zout en verdund tot 0.001, 0.002 en 0.01 gr. cc.

Ustvedt prikt bij de diagnostische BCG-test met een gramfoonnaald 2 à 3 mm. diep in de huid, door een druppel BCG-vaccin. Levend BCG van 20 mg. per cc. zou dezelfde reactie geven als dood BCG van 50 mgr. per cc. Slechts geringe hoeveelheden worden zo geënt.

Met deze wisselende hoeveelheden met verschillende methodieken intradermaal of intracutaan ingebrachte wel of niet levende, virulente of niet virulente tuberkel-bacillen van humane of bovine stam zijn onderzoeken verricht.

§ 2 DE MACROSCOPISCHE REACTIE OP DE i.c. BCG-VACCINATIE.

a. bij tuberculine-ongevoelige personen.

Nègre en Bretey, Marfan, Birkhaug, Rosenthal, Leider en Sulzberger zien in de eerste twee à drie weken na de BCG-vaccinatie geen verandering optreden. Het is volgens hen de incubatie-periode waarin de persoon voor tuberculine gevoelig wordt. Hierna treedt op de vaccinatieplaats achtereenvolgens op: roodheid, induratie, papelvorming, blaasjes, pusteltjes en vervolgens een ulcus. Na 6 à 12 weken is dit weer genezen.

Israël, Sones en Stein beschrijven dat zich al 24 tot 72 uur na de i.c. injectie een klein papeltje ontwikkelt van 3 à 5 mm in diameter. Dit groeit door en verloopt verder als boven beschreven.

Ström bereidde BCG-vaccin en voegde aan de voedingsbodem radio-actief fosphaat toe. Op deze wijze verkreeg hij gemerkt BCG-vaccin. Zijn reactie verloopt als bij de andere schrijvers. Ström nam waar dat bij personen welke niet met de tuberkel-bacil in aanraking zijn geweest en waarbij zich geen immuniteit heeft kunnen ontwikkelen, terplaatse van de vaccinatie een snelle vermindering van de radio-activiteit plaats heeft. Hij vond in de regionale lymphomen een toeneming van de radio-activiteit. Na 3 en na 24 uur zijn al duidelijk waarneembare verschillen aanwezig.

Bij de diagnostische BCG-test,¹ welke vooral door Ustvedt werd gepropageerd, treedt na 2-4 weken terplaatse van de injectie een knobbeltje op dat meestal na 6 weken zijn grootste omvang bereikt. Soms treedt necrose op.

Het geheel geneest met een litteken. Soms treedt bij deze methodiek helemaal geen reactie op. Een onmiddellijke reactie na de injectie zou kunnen volgen welke na vier dagen weer verdwenen is. Het is een erythema dat volgens Ustvedt niet alleen op het trauma van de injectie zou berusten. Bepaalde proteïne-fracties van de tuberkel-bacil zouden ervoor verantwoordelijk zijn.

Bjørnstad gebruikte gedood BCG-vaccin en dode tuberkel-bacillen bij zijn proeven en zag dat de reactiepapel die na twee weken ontstond, geen neiging tot necrose vertoonde. De papel kon maanden blijven bestaan.

Samenvatting:

Vele schrijvers (o.a. Nègre en Bretey) zien geen reactie van de BCG-vaccinatie totdat de tuberculine-gevoeligheid op gaat treden. Dan ontwikkelt zich roodheid, induratie en een papeltje dat kan gaan zweren. Na 6 à 12 weken geneest dit. Israël et. al. namen na 1. à 3 dagen een papeltje waar, dat verder als boven beschreven verloopt.

Bjørnstad die dood BCG-vaccin en gedode tuberkel-bacillen gebruikte nam geen necrose waar. Met de diagnostische BCG-test van Ustvedt werd soms necrose waargenomen van het papeltje dat na 2 à 3 weken ontstaat.

Strom nam een snelle afvoer van de radio-actief gemerkte BCG-bacillen terplaatse van de applicatie waar. In de regionale lymphklieren nam de radio-activiteit toe.

b. bij tuberculine-gevoelige personen.

Wanneer men personen welke voor tuberculine gevoelig zijn toch i.c. BCG-vaccin inspuit, ontstaat het z.g. Koch's phenomeen. Er treedt meer of minder vlug (in uren) een plaatselijke roodheid, zwelling en vaak pijnlijkheid op. Het weefsel wordt necrotisch en wordt uitgestoten. Er ontstaat na 2 à 3 dagen een scherp uitgeponste zweer, welke in 2 à 6 weken geneest.

Het Koch's phenomeen is een afweer-mechanisme van de huid. Tengevolge van de aanwezige tuberculine-gevoeligheid ontstaat terplaatse van de i.c. BCG-vaccinatie, waarbij een grote hoeveelheid tuberkel-bacillen worden ingebracht, een heftige ontstekings-reactie.

Het resultaat is een snel uitstoten van de bacillen, het belemmeren van hun vermeerdering en van hun verspreiding door het lichaam. Er treedt nu geen lymphklierzwellings op (Canetti, Makada). Wanneer een klein aantal bacillen wordt ingespoten of indien de tuberculine-gevoeligheid minder ontwikkeld is, dan is de snelheid van het ontstaan en de intensiteit van de ontsteking gering (Bjørnstad, Leider en Sulzberger, Rich). Er ontwikkelt zich terplaatse een papels, waarin wel of geen necrose kan ontstaan.

Het Koch's phenomeen zou een bijzonder geval zijn van een wet die volgens J. Jadassohn algemeen geldt en volgens Levandowsky als volgt wordt geformuleerd. „Daar waar bacteriën zich in het lichaam ongestoord vermeerderen, antwoordt het lichaam met een niet specifieke vorm van de ontsteking; waar bacteriën langzaam onder invloed van antilichamen uiteenvallen, waar eiwit van bacteriën wordt afgebroken (waar antilichamen met bacterieproducten reageren), daar ontstaan tuberkels en tuberculoïde structuren.”

Ström deelde zijn met gewoon BCG gevaccineerde kinderen in twee groepen in: zij die wel en zij die niet voor tuberculine gevoelig werden. Beide groepen werden daarna met radio-actief fosphaat gemerkt BCG i.c. ingespoten. Beiden hielden dit vaccin terplaatse vast, de voor tuberculine gevoelig geworden groep meer dan de tuberculine-ongevoelige groep. Hij vermeldt dat Spiess en Poppe dezelfde waarnemingen deden bij dierproeven. Dieren met „immuniteit” retineerden radio-actief BCG, dieren zonder „immuniteit” deden dit niet.

Bij de diagnostische BCG-test volgens Ustvedt zou binnen 10 dagen na i.c. injectie van BCG een knobbeltje te voorschijn komen met donkerrode tot paarse verkleuring. Centrale necrose kan optreden. Na 3 à 4 weken is alles weer meestal verdwenen, soms een litteken nalatend.

Samenvatting:

Bij tuberculine-gevoelige personen geeft BCG-vaccinatie aanleiding tot het ontstaan van het Kochse phenomeen. De snelheid en heftigheid waarmede deze reactie verloopt hangt af van de hoeveelheid ingespoten tuberkel-bacillen en de mate van tuberculine-gevoeligheid.

Met behulp van radio-actief gemerkt BCG-vaccin constateerde Ström dat bij deze personen de bacillen ter plaatse van de injectie werden vastgehouden.

Met de diagnostische BCG-vaccinatie volgens Ustvedt treedt de z.g. versnelde reactie op, d.w.z. binnen de 10 dagen verschijnt er een paars-rood knobbeltje.

c. bij patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck, welke voor tuberculine ongevoelig zijn.

Lemming nam een plaatselijke reactie waar met klierzwellings bij zijn eerste met BCG gevaccineerde patiënt. Hierna nam hij

eenmaal waar, dat er zich terplaatse van de vaccinatie een reactie-papel ontwikkelde, welke identiek was met de spontane afwijking van de huid zoals bij de ziekte van Besnier-Boeck kan voorkomen. De laesie bleef gedurende 1 jaar bestaan.

Leider en Sulzberger onderzochten vier patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck, welke voor tuberculine ongevoelig waren voor 10 T.U. en 100 T.U. Na i.c. BCG-injectie ontwikkelde zich na 5-7 dagen een langzaam groeiende papel, welke rustig doorgroeide, soms tot een kleine plaque. Herhaling gaf hetzelfde beloop. Leider en Sulzberger menen dat deze vorm van reactie op i.c. BCG-vaccinatie en vooral ook het verschil in tijdsduur na de i.c. injectie en het ontstaan van de papel afwijkt van de vorm zoals deze bij tuberculine-ongevoelige en -gevoelige personen voorkomt (1e en 2e deel van Koch's fundamenteel onderzoek). Zij hechten hieraan veel waarde en noemen dit zelfs een derde vorm van klinisch beloop na i.c. BCG-vaccinatie. Een patiënt van Bernstein en Spoor kreeg geen necrose van de reactie-papel.

Israël, Sones en Stein onderzochten 20 patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck, welke ongevoelig waren voor tuberculine. De locale reactie op de i.c. BCG-vaccinatie was de eerste drie dagen als bij de tuberculine-ongevoelige controle-personen. Ulceratie kwam voor tussen de 3e en 8e week bij 12 patiënten. Bij drie was de ulceratie vertraagd en ontstond tussen de 9-16e week. Bij 5 kwam geen ulceratie voor. Revaccinatie gaf dezelfde waarnemingen; geen acute locale ontstekingsreactie, geen Koch's phenomeen. Bij 7 van de 10 revaccinaties ontstond een zweertje na 8 weken, terwijl na 3 vaccinaties bij één patiënt geen zweer ontstond. Er was geen samenhang tussen wel en geen zweervorming en wel of niet gevoelig worden voor tuberculine.

Löfgren, Ström en Widström onderzochten vier patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck, welke ongevoelig waren voor tuberculine met behulp van radio-actief BCG. Het blijkt dan dat de voor tuberculine ongevoelige patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck, reageren zoals tuberculine-ongevoelige personen doen welke niet met tuberkel-bacillen in aanraking zijn geweest. Er was terplaatse van de i.c. vaccinatie een snel verdwijnen van de bacillen. Bij 10 patiënten was BCG-vaccinatie verricht maar deze waren niet voor tuberculine gevoelig geworden. Zij reageerden op radio-actief BCG-vaccin met een z.g. „immuniteits-reactie“, d.w.z. er had minder afvoer plaats naar de regionale lymphklieren dan bij personen die nooit met een mycobacterium in aanraking zijn geweest.

Bjørnstad gebruikte gedood BCG-vaccin of dode tuberkel-bacillen. Bij 9 patiënten nam hij geen necrose van de reactie-papel waar. Deze papel bereikte 1 a 2 weken na de i.c. injectie haar grootste omvang en bleef maanden lang bestaan. Deze heeft een bruine gedeeltelijk bleek-rode kleur, soms blauw-rood. De grootte was 2-5 mm.

Warfinge beschrijft een patiënte met de ziekte van Besnier-Boeck, welke een open longtuberculose kreeg. Zij bleef voor tuber-

culine ongevoelig. Van haar eigen tuberkel-bacillen uit het sputum gekweekt, werd een suspensie gemaakt en i.c. geïnjecteerd. Er ontwikkelde zich 6 dagen na de injectie een blauw-rood papeltje dat langzaam groeide. Bij drie patiënten verdacht van de ziekte van Besnier-Boeck kwam na i.c. injectie met gedode tuberkel-bacillen een blauw-rood papeltje tot ontwikkeling, dat weken en maanden bleef bestaan.

Danbolt vond bij 21 patiënten twee maal een vroeg optredende reactie bij de diagnostische BCG-test volgens Ustvedt. De overige reacties verliepen als bij tuberculine-ongevoelige, normale personen, d.w.z. late reacties traden op.

Samenvatting:

De i.c. BCG-vaccinaties bij tuberculine-ongevoelige patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck verlopen in het algemeen als bij normale personen welke negatieve tuberculine-reacties bezitten. Leider en Sulzberger vermelden een 5-7 dagen na de i.c. injectie optredende papel en zien hierin een bijzondere vorm van reageren. Lemming nam 1 x een klierzwellung waar. Israël et. al. namen geen verschil waar t.o.v. tuberculine-ongevoelige normale personen.

Löfgren, Ström en Widström namen met radio-actief BCG een reactie waar bij vier tuberculine-ongevoelige Besnier-Boeck-patiënten, welke verliep als bij tuberculine-ongevoelige, normale personen. De 10 patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck welke na BCG-vaccinatie nog negatieve tuberculine-reacties vertoonden reageerden als tuberculine-positieve personen.

Danbolt vond bij 21 patiënten 2 x een vroeg optredende reactie bij de diagnostische BCG-test. De overige patiënten hadden een laat optredende reactie.

d. bij patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck, welke voor tuberculine gevoelig zijn.

Leider et. al. vonden bij onderzoek van twee patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck, welke wel gevoelig waren voor tuberculine, dat er wel necrose en zweervorming optrad. Dit maant tot nog grotere voorzichtigheid in het hanteren van het door Leider en Sulzberger opgestelde schema. Zij gaven niet aan hoeveel BCG-vaccin i.c. werd ingespoten. Van het wel of niet meer aantoonbaar zijn van tuberkel-bacillen wordt geen verslag gegeven.

Israël, Sones, Stein en Aronsons gaven aan een patiënt met de ziekte van Besnier-Boeck met positieve tuberculine-reactie BCG-vaccin. Geen Koch's phenomeen deed zich voor.

Löfgren, Ström en Widström namen bij 17 voor tuberculine gevoelige patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck waar, dat deze reageren op een i.c. injectie van 0.1 cc. radio-actief BCG-vaccin, als normale tuberculine-gevoelige personen.

In een onderzoek van Danbolt met de diagnostische BCG-test volgens Ustvedt, was bij 5 patiënten 3 x een positieve vroege reactie aanwezig.

In het onderzoek dat Bjørnstad met gedood BCG-vaccin en dode tuberkel-bacillen verrichtte waren vier patiënten voor tuberculine gevoelig, waarvan twee zeer gevoelig voor tuberculine (1 T.U. en 1/10 T.U.). Tweemaal ontstond er necrose van de reactie-papels, welke een omvang had tot 12 mm.

Samenvatting:

Patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck welke gevoelig zijn voor tuberculine reageren meestal op een i.c. BCG-vaccinatie als normale tuberculine-gevoelige personen.

§ 3 DE HISTOLOGISCHE VERANDERINGEN WELKE OPTREDEN NA DE i.c. BCG-VACCINATIE.

a. bij tuberculine-ongevoelige personen.

Lemming verrichtte histologisch onderzoek van i.c. BCG-vaccinatie-reacties, afkomstig van tuberculine-ongevoelige, normale personen.

Hij zag twee reactie-vormen n.l. echte tuberkelvorming met necrose en daarnaast granulatieweefsel, rijk aan lymphocyten en epitheloïdcellen-haarden met veel reuscellen, omgeven door veel lymphocyten.

Nègre en Bretey bestudeerden de plaatselijke veranderingen t.g.v. de i.c. BCG-vaccinaties bij kinderen. Volgens Leider en Hyman zouden deze in klinisch, immunologisch en histologisch aspect precies hetzelfde zijn als die welke in dierproeven werden gevonden (Rosenthal). Nègre en Bretey geven echter een verslag van BCG-vaccinatie bij caviae verricht met behulp van een door hen onderzochte scarificatie-methode. Microscopisch was de eind-phase van de incubatie-periode en de vroege phase van de zichtbare reactie gekenmerkt door polynucleaire en kleine ronde ontstekingscellen. De late phase van de reactie, vooral de necrotische, zwerende en genezende phase, was gekenmerkt door het verschijnen van de tuberculoïde structuren, dat is, groepen van epitheloïde cellen, reuscellen en lymphocyten in tuberkel-formatie.

Leider en Sulzberger namen bij histologisch onderzoek de volgende veranderingen waar: aanvankelijk een ontsteking waarbij veel polynucleaire en kleine, eenkernige cellen aanwezig zijn, op het einde tuberculoïde structuur.

Bjørnstad verrichtte 8x histologisch onderzoek van reactie-papels van gedood BCG-vaccin, dat i.c. bij 6 voor tuberculine-ongevoelige controle-patiënten was ingespoten. In 6 papels vond hij een sarcoïde structuur, eenmaal een beeld van een chronische ontsteking dat even goed op tuberculose als op sarcoidosis zou kunnen wijzen. Eenmaal zag hij het beeld van een gewone chronische ontsteking. 1/10 tot 1/100 mgr. gedode bacillen waren hierbij ingespoten en de tijdsduur voor alle onderzoeken wordt aangegeven van 3-18 weken zonder nadere differentiatie.

Samenvatting:

Lemming nam twee reactie-vormen waar, n.l. echte tuberculeuze en sarcoïde structuren.

Leider en Sulzberger zien aanvankelijk het beeld van banale ontsteking en het op het einde „tuberculoïde” structuren. Zij verstaan hieronder groepen van epitheloïde cellen, reuscellen en lymphocyten in tuberkel-formatie.

Bjørnstad nam drie reactie-vormen waar. Het beeld van een banale ontsteking, sarcoïde structuren en eenmaal een beeld, sterk gelijkend op tuberculose.

b. bij tuberculine-gevoelige personen.

Volgens Leider en Hyman zijn de histologische veranderingen in de huid voor tuberculine ongevoelige en gevoelige personen na i.c. BCG-vaccinatie in wezen hetzelfde. Bij de tuberculine-gevoelige persoon is de reactie op de BCG-hervaccinatie sneller met als resultaat het veel sneller optreden van tuberculoïde structuren. Microscopisch ziet men op het hoogtepunt van de reactie abscesachtige ophopingen van polynucleaire leucocyten, omgeven door mononucleaire cellen (Krause en Peters). Wanneer een gering aantal tuberkel-bacillen wordt ingespoten bij tuberculine-gevoelige personen, dan ontwikkelen zich alle reacties in geringere omvang. Er treedt nu geen necrose op en mononucleaire macrophagen verschijnen snel en vormen tuberkels.

Rich en Mc. Cardock hebben erop gewezen, dat het aandeel van de polynucleaire cellen tot nul gereduceerd kan worden, wanneer slechts een enkele tuberkel-bacil door een mononucleaire cel wordt gefagocyteerd, b.v. na i.v. injectie van een fijne suspensie tuberkel-bacillen. Onder zulke voorwaarden ontstaan naakte tuberkels, zonder voorafgaande phase van een acuut ontstekingsproces.

Bernstein en Spoor publiceerden een onderzoek uit de school van Sulzberger. Zij vaccineerden 15 patiënten met verschillende huidafwijkingen met BCG-vaccin. De histologie valt bij hun onderzoek in drie groepen uiteen:

1) Een chronisch ontstekingsproces, gekenmerkt door organiserend granulatieweefsel, polynucleairen en fibroblastachtige cellen, oedeem en necrose. Vijf maal werd dit gezien. Geen enkel verschijnsel van tuberkelvorming werd waargenomen.

2) Een tuberculosis cutis-type, gekenmerkt door de aanwezigheid van epitheloïde-cellen, met af en toe tuberkelvorming en altijd samengaande met Langhanse reuscellen. 8 x werd dit waargenomen,

3) Het sarcoïde-reactie-type, gekenmerkt door naakte tuberkels van epitheloïde-cellen zonder Langhanse reuscellen werd bij één patiënt gezien.

In hoofdzaken bevestigen zij de resultaten van Lemming, Warfinge, Leider, Sulzberger en Hyman.

Er is een algemeen samengaan tussen tuberculine-gevoeligheid en het soort antwoord op BCG-vaccinatie. Hun voornaamste verschil met de bevindingen van andere onderzoekers is gelegen in het grote aantal banale ontstekingen, welke zij verkregen.

De belangrijkste waarneming vinden zij het optreden van een sarcoïde-achtige reactie, veroorzaakt door tuberkel-bacillen.

Samenvatting:

Het Kochse phenomeen treedt op.

Volgens Leider en Hyman is deze reactie hetzelfde als bij tuberculine-ongevoelige personen, zij zou alleen veel sneller verlopen.

Na de verschijnselen van banale ontsteking verschijnt het epithe-loïde granulatieweefsel met necrose.

Bernstein en Spoor zien drie reactie-vormen:

1. een chronisch ontstekingsproces zonder tuberkel-vorming.
2. tuberculosis cutis-type met echte tuberkel-vorming.
3. sarcoïde-type, naakte tuberkels zonder reuscellen van Langhans.

c. bij patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck, welke voor tuberculine ongevoelig zijn.

Lemming vaccineerde een patiënt met BCG-vaccin en deze bleef voor tuberculine ongevoelig. De patiënt kreeg een drie maal zo sterke BCG-vaccinatie, waarop een plaatselijke reactie verscheen met klierzwellings. Na twaalf weken werd deze klier histologisch onderzocht, er bleek een sarcoïde bouw aanwezig te zijn. Patiënt bleef ongevoelig voor tuberculine.

Een patiënte kreeg terplaatse van de BCG-vaccinatie een reactie-pap, welke macroscopisch een treffende gelijkenis vertoonde met de spontane huid-afwijkingen, zoals deze bij de ziekte van Besnier-Boeck voorkomen. Negen maanden na de vaccinatie werd proef-excisie verricht. Histologisch onderzoek liet een sarcoïde structuur zien. Van de overige negen patiënten geeft hij geen verslag van het histologisch beeld na de vaccinatie.

Warfinge herhaalde in een geval met levende virulente humane tuberkel-bacillen de proeven van Lemming en verkreeg hetzelfde resultaat.

Een patiënt van 26 jaar kreeg een febris uveo parotidea met hilus klierzwellings. Mantoux 10 T.U. negatief, 100 T.U. positief. Histologisch vertoonde een lymphklier een sarcoïde structuur. Een paar jaar later kreeg zij acuut koorts en gaf sputum op. Hierin werden tuberkel-bacillen van het humane type aangetoond. De reactie van Mantoux 10 T.U., 100 T.U. en 300 T.U. was nu negatief. Van de Löwensteincultuur van het sputum werden de tuberkel-bacillen in een fysiologisch zout-solutie gesuspenseerd. (10 à 100 bacillen per 0.1 cc.) Hiervan werd 0.1 cc. i.c. ingespoten, waarna zich een blauw-rood papeltje na 6 dagen ontwikkelde, dat langzaam groeide. Na vier weken werd proefexcisie uit de rand verricht. In het corium waren veel epitheloïde celophopingen aanwezig. Geen tuberkel-bacil was in het praeparaat te zien. Daar de kliersuspensie voor de reactie van Kveim verhit wordt, doet hij ditzelfde met de tubercel-bacillen. Met de bacillen-suspensies verricht hij i.c. injecties bij 3 patiënten met en bij 2 verdacht voor de ziekte van Besnier-Boeck. Virulente tuberkel-bacillen van het humane type werden in suspensievorm bereid die 0.005 mgr. tot 0.1 mgr. tuberkel-bacillen

per cc. bevatten. Deze werden twee opeenvolgende dagen op 60 graden C. gedurende twee uren verhit. 0.1 cc. hiervan werd i.c. ingespoten. Bij twee patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck ontstond een sarcoïde structuur, 4 weken na de i.c. injectie van gedode tuberkel-bacillen.

Bij een patiënt met de in-actieve vorm van de ziekte van Besnier-Boeck, ontstond het beeld dat volgens Warfinge niet meer zo kenmerkend was. De hoopjes epitheloïde cellen waren niet meer scherp begrensd en bevatten meer lymphocyten dan gewoonlijk bij de ziekte van Besnier-Boeck het geval is. Deze drie patiënten waren voor 1 T.U. ongevoelig. Er werden vier weken na de intracutane injectie van 0.001 mgr. gedode tuberkel-bacillen een keer resten van zuurvaste staafjes gevonden.

Bij 2 patiënten, verdacht voor de ziekte van Besnier-Boeck, kwam er een papeltje tot ontwikkeling dat weken en maanden bleef bestaan.

Histologisch onderzoek 4 à 6 weken na injectie liet hierbij een beeld zien, dat noch op sarcoïdosis, noch op tuberculose geleek. Het was een beeld van niet-specifieke ontsteking of vreemde lichamen granulatie-weefsel (1 x).

Een patiënt met de ziekte van Besnier-Boeck in het onderzoek van Bernstein bleef ongevoelig voor tuberculine na BCG-vaccinatie. Geen necrose terplaatse van de papel, welke een sarcoïde structuur bezat.

Leider en Hyman onderzochten van vier patiënten de i.c. BCG-vaccinatieplaats. Zij namen hierbij een beeld waar van banale ontsteking en tuberculoïde-structuren, sterk gelijkend op die welke voorkomen bij de ziekte van Besnier-Boeck. Van de 13 patiënten waren er 9 ongevoelig voor 100 T.U. tuberculine in het onderzoek dat Bjørnstad verrichtte. Van de 9 tuberculine-ongevoelige patiënten kreeg er geen één necrose van de reactie-papel. Zij kregen 0,10 mgr. gedode baccillen i.c. Er wordt verder alleen vermeld dat een sarcoïde structuur was ontstaan in de reactie-papel bij twee patiënten, welke voor tuberculine ongevoelig waren.

Overigens wordt er geen onderscheid in hun verslag meer gemaakt tussen wel en niet voor tuberculine gevoelige patiënten. Bij 10 patiënten werd 17 x histologisch onderzoek verricht. Hierbij werd 7 x een beeld verkregen dat op tuberculose geleek, 6 x was het beeld moeilijk te interpreteren. Eenmaal werd een chronisch ontstekingsproces gezien en eenmaal een vreemd voorwerp granuloma.

Bjørnstad veronderstelt dat de tijd welke verloopt tussen de i.c. injectie en het uitponzen hiervan, van essentiële betekenis is voor het histologische beeld dat men aantreft. Bij laat excideren (na 6 weken) zal men meer sarcoïde structuren vinden. Tevens meent hij dat de kleinste hoeveelheid bacillen die nodig is om een zichtbare reactie te verkrijgen, juist de dosis is welke de meeste sarcoïde structuren geeft.

Danbolt verrichtte 11 x histologisch onderzoek van late reacties verkregen met de diagnostische BCG-test volgens Ustvedt. Zon-

der een aantal te noemen nam hij sarcoïde structuren waar en ook klassieke vormen van tuberculose.

Samenvatting:

Lemming en Warfinge zagen sarcoïde structuren optreden. Gelijksortige waarnemingen deden Bernstein en Spoor, Leider en Hyman, Bjørnstad. Daarnaast worden ook beelden beschreven zoals voorkomen bij banale ontstekingen, Warfinge, Leider, Hyman en Bjørnstad.

Danbolt nam bij de diagnostische BCG-test volgens Ustvedt klassieke tuberculeuze en ook sarcoïde structuren waar.

Bjørnstad wijst erop dat de tijd die verloopt tussen de i.c. injectie van het BCG-vaccin en het uitponzen voor histologisch onderzoek, van invloed is op het verkregen beeld. Laat onderzochte reacties gaven meer sarcoïde structuren. Hij wijst er verder op dat het aantal bacillen dat geïnjecteerd wordt eveneens van belang is. De kleinste dosis die nog juist een zichtbare verandering veroorzaakt, geeft de meeste sarcoïde structuren.

d. bij patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck welke voor tuberculine gevoelig zijn.

Leider en Sulzberger vaccineerden twee patiënten met BCG, er volgde necrose met zweervorming na twee dagen. Er wordt geen histologisch onderzoek vermeld.

Bjørnstad geeft geen afzonderlijk verslag van het histologisch onderzoek van vier patiënten. Twee waren zeer gevoelig voor tuberculine. Hierbij ontstond zweervorming. Hij spoot dood BCG-vaccin in en dode virulente tuberkel-bacillen.

Rostenberg et. al. namen geen verschil waar in het histologisch beeld van de i.c. BCG-vaccinatie bij tuberculine-gevoelige en -ongevoelige patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck en controle-patiënten.

Zij zagen bij histologisch onderzoek drie verschillende reactie-vormen optreden, geen verandering, banale vorm van ontsteking en tuberculeuze veranderingen. Geen sarcoïde structuur werd waargenomen.

Israël, Sones en Stein en Aronson verrichtten van de reactie-papels bij hun patiënt geen histologisch onderzoek.

e. bij patiënten met tuberculose.

Bij 6 patiënten met huid-tuberculose en gevoelig voor tuberculine werden in het onderzoek van Bjørnstad 6 papels geëxcideerd. Zij vonden eenmaal een sarcoïde structuur, vijfmaal een beeld dat op tuberculose geleek. De dosering varieerde van 1/1000 tot 1/10.000 mgr. tuberkelbacillen en één patiënt had een tuberculine-gevoeligheid tot 1/10.000 T.U.

Warfinge verkreeg bij veertig tuberculine-gevoelige patiënten,

met of zonder actieve longtuberculose-beelden, welke op tuberculose geleken.

f. bij dieren welke voor tuberculine ongevoelig zijn.

Rosenthal spoot 10 mgr. BCG-vaccin i.c. bij tuberculine-ongevoelige caviae in en volgde o.a. de plaatselijke reactie. Na twee uur was de subcutis en spierlaag onder de huid oedemateus en waren de tuberkel-bacillen vooral in het corium van de huid aanwezig. Een gering aantal segmentkernige cellen waren verspreid te zien. De bloedvaten waren verwijd. Na vier uur werd de gente plaats beter waarneembaar door een brede zone van neutrophiele leucocyten. Het bacillen-aantal was toegenomen en de bacillen waren meer bij elkaar geklont, met schaarse korrel-vorming. Er vond een levendige phagocytose plaats. De lymphevaten waren sterk verwijd en bevatten vele phagocyterende microphagen. Op 2 à 4 cm afstand van de entingsplaats toonden perivasculaire histiocyten levendige proliferatie.

Zeven uren na injectie van het vaccin was het aantal bacillen afgenomen en de phagocytose vermeerderd. De laesie bereikte de subcutis en was goed gelocaliseerd door de brede zoom van polynucleaire cellen, waarin verspreid histiocyten voorkwamen. De lymphevaten waren wijd maar leeg.

Na 24 uur was het aantal histiocyten toegenomen en na 48 uur bestond de peripherie van het knobbeltje uit gelijke delen histiocyten en polynucleaire cellen. In het midden waren gedegenerateerde ettercellen aanwezig met wel en niet zuurvaste staafjes en korrels. De laesie bereikte de cutis, subcutis en spierlagen.

In het tijdsverloop van 3 à 8 dagen nam de hoeveelheid pus toe en de phagocytose had plaats door histiocyten.

Uitbreiding van de goed gelocaliseerde laesie werd voorkomen door phagocyterende, polynucleaire cellen. De reactie op afstand van het granulatieweefsel verliep op dezelfde wijze, doch was iets verder ontwikkeld t.o.v. de centrale haard. Op het einde van de tweede week waren de gering in aantal overgebleven bacillen en korrels alle gefagocyteerd door de epitheloïde cellen, welke voor 75 % het granulatieweefsel vormden. De epitheloïde cellen vertoonden polymorphie en vormden reuscellen, sommigen van het Langhanse type; lymphocyten, fibroblasten en zelfs bindweefsel omgaven de laesie.

Bloedingen werden in het omgevende weefsel gezien en in geringe mate ook in het granulatieweefsel zelf, bij caviae welke op het punt stonden voor tuberculine gevoelig te worden.

Bij het naderen van de derde week na i.c. injectie, nam het aantal reuscellen toe, meerdere van het Langhanse type waren aanwezig.

Gebieden van centrale necrose werden weer waargenomen, maar deze keer werden zij veroorzaakt door gedegenerateerde epitheloïde cellen, langzamerhand werd het knobbeltje kleiner en de hoeveelheid lymphocyten, fibroblasten en bindweefsel nam toe. In dit sta-

dium nam men op afstand van het granulatie-weefsel histiocyten waar, welke een enkele bacil bevatten.

Op het einde van de eerste maanden bestond het granulatiweefsel vooral uit fibroblasten en bindweefsel, Langanse reuscellen en enkele epitheloïde cellen. In de vijfde week was geen verschijnsel van tuberculose meer te zien, een litteken had zich gevormd. Na vijf weken was een geringe fibrosis aanwezig. Na 37 dagen werden geen bacillen waargenomen.

Birkhaug vond met de „multiple puncture“-techniek van Rosenthal bij caviae na 4 weken, dat in 100 % der gevallen een gevoeligheid voor tuberculine was ontstaan. Zes maanden na de vaccinatie toonde hij in de huid en regionale lymphklieren nog zuurvaste staafjes aan.

Nègre en Bretey beschrijven de histologie van de scarificatiemethodiek, welke met de bevindingen van Rosenthal overeenkomt.

Rosenthal vermeldt dat Coulaud, Makada en Birkhaug bij hun onderzoeken van i.c. BCG-vaccinatie-plaatsen tuberkel-vorming hebben waargenomen.

Coulaud verrichtte echter subcutane injecties met virulente tuberkel-bacillen bij konijnen, Makada hetzelfde bij apen en Birkhaug bij caviae. Deze laatste vermeldt alleen het macroscopische aspect van de intracutane vaccinatie en het tijdstip van optreden van tuberculine-gevoeligheid.

Korte samenvatting:

Aanvankelijk werd het beeld van een banaal ontstekingsproces waargenomen. Ten tijde van het omslaan van de tuberculine-reactie kwamen de epitheloïde cellen-infiltraten te voorschijn. Necrose ontstond. Na 37 dagen werden geen bacillen meer gevonden.

Na $\frac{1}{2}$ jaar waren deze nog wel in de regionale lymphklieren aanwezig.

§ 4 DE INVLOED VAN DE BCG-VACCINATIE OP DE GEVOELIGHEID VAN HUID VOOR TUBERCULINE BIJ:

a. personen welke ongevoelig zijn voor tuberculine.

Rich, Boquet en Bretey toonden aan dat de graad van gevoeligheid voor tuberculine na vaccinatie met BCG van verschillende factoren afhankelijk is. Deze zijn, de virulentie van de gebruikte bacillen, het feit of deze dood dan wel levend zijn, hun aantal, de manier van vaccineren.

De natuurlijke weerstand van de te vaccineren persoon speelt een belangrijke rol, zoals o.a. ook door Edwards, Palmer en Magnus is aangetoond. Deze factor blijkt famillair voor te komen.

Vervolgens moet de persoon het vermogen bezitten een allergie van de vertraagde vorm te vormen.

Het blijkt dan dat bij de i.c. vorm van vaccineren er bij 90 % à 95% van de gevaccineerde personen een positieve Mantoux-test

met verdunde O.T. uitgevoerd, na 6 weken aanwezig is. Zowel Griep, Nègre en Bretey, Edwards c.s. en Griesbach geven hierover zeer uitgebreide mededelingen en beschouwingen. Na de diagnostische BCG-test volgens Ustvedt ziet men soms gevoeligheid voor tuberculine ontstaan (Rutgers).

b. bij normale personen die voor tuberculine gevoelig zijn.

Deze veranderen in hun gevoeligheid voor tuberculine na eenmaal i.c. vaccineren practisch niets. Het is wel mogelijk bij voortgezette vaccinatie een ongevoeligheid voor tuberculine teweeg te brengen.

De Assis bereikt dit door BCG per os te blijven verstrekken. Fournier en Blaque-Belair door herhaalde i.c. BCG-vaccinaties.

c. bij patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck welke ongevoelig zijn voor tuberculine.

Lemming verrichtte bij 11 patiënten i.c. BCG-vaccinaties. Hij nam waar dat 8 x geen gevoeligheid voor tuberculine optrad. Hij geeft verslag van een patiënte welke na driemaal vaccineren nog voor tuberculine ongevoelig bleef.

Sohier en Gregoire namen twee patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck waar, welke na BCG-vaccinatie door middel van de scarificatie-methode wel gevoelig werden voor tuberculine. Een patiënt kreeg na de vaccinatie een opvallende verbetering van de sarcoïde afwijkingen. Weissenbach verkreeg bij een patiënte geen tuberculine-gevoeligheid na vaccinatie en vermeldt dat Saenz eenzelfde waarneming deed.

De vier patiënten van Leider en Sulzberger bleven ongevoelig voor tuberculine na de vaccinatie.

Cornbleet vaccineerde vijf patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck met BCG. Eén patiënt werd voor tuberculine gevoelig en vier patiënten bleven ongevoelig.

Bij 20 patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck in het onderzoek van Israël, Sones, Stein en Aronson werden er 45 % voor tuberculine gevoelig na BCG-vaccinatie. Na 9 maanden hadden zij hun tuberculine-gevoeligheid weer verloren. Bij re-vaccinatie werd opnieuw een snel verlopende gevoeligheid voor tuberculine vastgesteld. Slechts 20 % was nog gevoelig 6 maanden na vaccinatie. Na 6 maanden was bij de controlegroep nog gevoeligheid aanwezig.

Meyer deed de waarneming dat twee personen welke niet voor tuberculine gevoelig werden na BCG-vaccinatie, leden aan de ziekte van Besnier-Boeck.

Warfinge nam een ongevoeligheid voor tuberculine waar na i.c. injectie van virulente levende tuberkel-bacillen. Deze patiënte leed aan de ziekte van Besnier-Boeck en verkreeg later een open longtuberculose.

De uit het sputum gekweekte tuberkel-bacillen werden voor de i.c. injectie gebruikt.

Samenvatting:

Na BCG-vaccinatie bij patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck treedt er vergeleken met normale personen in veel kleiner percentage tuberculine-gevoeligheid op. Hierover heerst een vrij grote eenstemmigheid. Lemming, Israël et. al. De bevindingen van Rostenberg, Sohier en Gregoire, Leider vormen hierop een uitzondering. De laatste onderzochten maar twee patiënten. Daarnaast wijst Israël et. al. erop dat de bij de ziekte van Besnier-Boeck verkregen tuberculine-allergie vergeleken met de normale personen weer snel is verdwenen.

d. bij patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck, welke voor tuberculine gevoelig zijn.

Bij de twee patiënten van Leider en Sulzberger, waarbij een Koch's phenomeen optrad wordt niet vermeld, hoe de gevoeligheid voor tuberculine hierna was.

Israël, Sones en Stein en Aronsons zagen geen Koch's phenomeen bij hun patiënt optreden. Na 24 maanden was deze patiënt niet meer voor tuberculine gevoelig.

Rostenberg et. al. namen geen verschil waar in de tuberculine-gevoeligheid na BCG-vaccinatie bij 13 patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck en 12 controle-patiënten.

§ 5 ZIJN EEN BEPAALDE TIJD NA DE BCG-VACCINATIE TER PLAATSE NOG TUBERKEL-BACILLEN AAN TE TONEN.

Hierover hebben wij maar enkele mededelingen gevonden.

Rostenberg en medewerkers wezen op het belang niet alleen aandacht te schenken aan de tuberculine-gevoeligheid na BCG-vaccinatie, doch tevens te letten op het wel of niet verdwijnen van de tuberkel-bacillen in BCG-vaccinatie-plaatsen. Bij 13 patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck en 11 controle-personen werden proefexcisies verricht op de vijfde, op de twaalfde dag en 6 weken na de BCG-vaccinatie. Tevens werden vaccinaties verricht met levende mycobacterium smegmatis en/of bacillus subtilis. Zij namen geen verschil waar tussen de patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck en controle-patiënten wat betreft het aanwezig zijn van zuurvaste staafjes in de injectieplaatsen.

Warfinge kon 4 weken na het injecteren geen tuberkel-bacillen meer aantonen bij de patiënte met de ziekte van Besnier-Boeck die longtuberculose kreeg. Bij drie patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck welke voor tuberculine ongevoelig waren, werden 4 weken na injectie van dode tuberkel-bacillen nog eenmaal zuurvaste staafjes gevonden. Bij een patiënt verdacht voor de ziekte van Besnier-Boeck en gevoelig voor tuberculine was 4 weken na injectie geen bacil meer aantoonbaar. Bij twee andere patiënten waren nog zuurvaste staafjes aanwezig.

§ 6 EIGEN ONDERZOEK

a. De toegepaste techniek.

Bij ons eigen onderzoek werd het levende BCG-vaccin van het Rijks-Instituut voor de Volksgezondheid te Utrecht i.c. geïnjiceerd. Volgens de inlichtingen van Dr. A. Brandwijk, wordt de stam aangehouden bij 38 graden C. op Sautonaardappel en elke 14 dagen overgezet. Van een 14 dagen oude Sautonaardappelcultuur wordt een Sautonkolf (150 ml. sauton in 250 cc. rondkolf) geënt. Deze Sautonkolf wordt gedurende 14 dagen bebroed bij 38 graden C. De BCG is dan in een dik op de vloeistof drijvend vlies gegroeid. Dit vlies wordt dan met behulp van een toestel van Birkhaug afgefiltreerd en tot een tablet geperst. Dit semi-droge tablet wordt gewogen en gesuspenderd in een verdunnings-vloeistof (1 deel sauton + 3 delen gedestilleerd water) zodanig, dat een suspensie wordt verkregen die 0.33 mg. BCG in 1 ml. bevat. Dit vaccin wordt onderzocht op aanwezigheid van andere kiemen dan BCG en op haar werkzaamheid. Indien het vaccin geen andere kiemen bevat dan BCG is het gereed voor uitgifte.

Hiervan werd 0.1 cc. i.c. ingespoten op het bovenste derde deel lateraal op de bovenarm, met behulp van een Mantoux-spuut naald nr. 18.

Er werd langzaam ingespoten teneinde de verdeling van de tuberkel-bacillen zo geleidelijk als mogelijk te verkrijgen.

Dit vaccin wordt steeds van dezelfde stam met dezelfde methodiek bereid.

b. de macroscopische reactie op de i.c. BCG-vaccinatie.

Volgens Leider en Sulzberger zou bij patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck welke voor tuberculine ongevoelig zijn, terplaatse van de i.c. injectie na 5-7 dagen een langzaam groeiende papel ontstaan.

Bij normale voor tuberculine-ongevoelige personen zou dit pas na twee weken voorkomen.

Bij zes van onze 45 voor tuberculine ongevoelige patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck verscheen er na een week een papel welke langzaam groeide. Bij 39 patiënten verscheen deze na twee weken. Ulceratie trad hierbij 2 x op.

Wij namen bij 100 i.c. BCG-vaccinaties bij normale personen 35 x een langzaam groeiende papel na 5-7 dagen waar. Bij de overige personen ontwikkelden zich 2 à 3 weken na de vaccinatie terplaatse een papeltje. Bij 13 personen ging dit ulcereren.

Bij patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck en normale personen die wel voor tuberculine gevoelig waren, hebben wij geen BCG-vaccinatie verricht. Het Kochse phenomeen dat hierbij kan optreden met de locale en algehele reactie leek ons een onverantwoord risico.

c. de histologische veranderingen die optreden na de i.c. BCG-vaccinatie (Tabel 4).

Bij 45 patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck werd 6 weken na de i.c. BCG-vaccinatie de injectieplaats uitgeponst. Door fouten bij het ponsen gemaakt, gingen tweemaal stansen voor histologisch onderzoek verloren en dus ook voor het onderzoek op zuurvaste staafjes hierin. In Tabel 4 zijn de resultaten weergegeven. Bij histologisch onderzoek werd 37 x een sarcoïde structuur waargenomen en 6 x het beeld van een banale ontsteking.

Bij 24 gezonde tuberculine-ongevoelige personen werd 6 weken na de i.c. BCG-vaccinatie de injectieplaats histologisch onderzocht. Er werd 2 x een tuberculeuze bouw waargenomen. Eenmaal werd het beeld van een banale ontsteking gezien. Bij 21 personen was een sarcoïde structuur aanwezig.

d. de invloed van de BCG-vaccinatie op de gevoeligheid voor tuberculine (Tabel 5).

Wat betreft de gevoeligheid voor tuberculine, 8 van de 45 patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck werden 8 weken na de i.c. BCG-vaccinatie voor tuberculine gevoelig. Na een jaar was deze gevoeligheid weer verdwenen.

37 Patiënten bleven na de vaccinatie voor tuberculine ongevoelig (10 T.U.). Van de 100 normale personen werden er 98 voor tuberculine gevoelig, zij waren dit na een jaar nog.

e. het aanwezig zijn van tuberkel-bacillen na 6 weken, in de i.c. BCG-vaccinatie-plaats (Tabel 6).

In de coupes van de i.c. BCG-vaccinatie-plaatsen van 43 patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck, werden 4 x met de kleuring van Ziehl-Nielsen zuurvaste staafjes gevonden en 39 x werden deze niet gezien.

Van de 43 stansen werden in 28 gevallen Löwenstein-cultures en in 15 gevallen caviaproeven verricht. Eenmaal werd een cavia voor tuberculine gevoelig. Bij obductie werden geen verschijnselen van tuberculose gevonden.

Eenmaal werd een Löwenstein-cultuur positief. De caviaproef hier van was negatief. De positieve caviaproef en Löwenstein-cultuur waren afkomstig van stansen, waarin in de coupes geen zuurvaste staafjes waren gevonden.

Driemaal werden in praeparaten, afkomstig van tuberculine-ongevoelige, normale personen, nog zuurvaste staafjes gevonden.

§ 7 DISCUSSIE.

De gedachten om met behulp van BCG-vaccinatie de theorie van J. Jadassohn van de positieve anergie te controleren is van Lemming afkomstig.

TABEL 4.

Histologie van de plaatselijke reactie, 6 weken na de i.c. BCG-vaccinatie.				
	Aantal	Sarcoïde structuren	Banale ontsteking	Tuberculeuze bouw
Patienten met de ziekte van Besnier-Boeck.	43	37	6	0
Normale gezonde personen.	24	21	1	2

TABEL 5.

Gevoeligheid voor tuberculine 8 weken na de i.c. BCG-vaccinatie.			
	Aantal	Tuberculine + (10 T.U.)	Tuberculine – (10 T.U.)
Patienten met de ziekte van Besnier-Boeck.	45	8	37
Normale gezonde personen.	100	98	2

TABEL 6.

Aanwezigheid van tuberkel-bacillen terplaatse van de BCG-vaccinatie, 6 weken na injectie van het vaccin.			
	Aantal	Zuurvaste staafjes	
		+	–
Patienten met de ziekte van Besnier-Boeck.	43	6	37
Normale gezonde personen.	24	3	21

Wanneer de ziekte van Besnier-Boeck een bijzondere vorm van tuberculose zou zijn, gekenmerkt door een afwijkend verloop, waarbij een hoge immuniteit t.o.v. het mycobacterium tuberculosis en een negatieve tuberculine-reactie, dan mag na een herbesmetting met het mycobacterium tuberculosis de tuberculine-reactie niet positief worden, indien deze hiervoor negatief was. Hiernaast moeten de tuberkel-bacillen zeer snel terplaatse waar zij indringen worden vernietigd.

Indien het levende tuberkel-bacillen zijn, mogen zij zich niet in die mate vermenigvuldigen als bij andere personen en mag men verwachten dat men minder afwijkingen vindt.

A. De beschrijving van de macroscopische reactie op de i.c. BCG-vaccinatie vindt men bij de verschillende onderzoekers niet identiek. De duur waarop een papeltje verschijnt is verschillend. Israël et. al. geven voor tuberculine-ongevoelige personen aan dat zich na 24 à 72 uur een papeltje vormt terwijl Nègre en Bretey o.a. dit pas na 2 à 3 weken zien verschijnen, op het tijdstip dat de persoon voor tuberculine gevoelig wordt (zie blz. 49). Bij de tuberculine-ongevoelige patiënt met de ziekte van Besnier-Boeck geven Israël, Bjørnstad e.a. dezelfde beschrijving van de i.c. BCG-vaccinatie-plaats als bij tuberculine-ongevoelige, normale personen (zie blz. 51).

Leider en Sulzberger zijn de enigen die een afwijkend beloop zouden hebben vastgesteld. Bij de Besnier-Boeck-patiënt zou zich na 5-7 dagen na de vaccinatie een papeltje ontwikkelen dat verder door-groeit en waarbij ulceratie kan optreden. Het zou een versnelde reactie zijn in de zin van de diagnostische BCG-test van Ustvedt en er op wijzen dat de patiënt met tuberkel-bacillen in aanraking zou zijn geweest. Danbolt nam bij 21 tuberculine-ongevoelige patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck tweemaal een vervroegde reactie waar.

Bij het eigen onderzoek werd aan 45 tuberculine-ongevoelige patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck i.c. BCG-vaccin toege-dien. Bij 6 patiënten ontwikkelde zich na 5-7 dagen een reactie-papel.

Bij 100 tuberculine-ongevoelige, normale personen namen wij dit 35 x waar. Het is dus een verschijnsel dat niet als typisch voor de ziekte van Besnier-Boeck beschouwd mag worden.

In het algemeen was het verloop van de reactie bij de tuberculine-ongevoelige patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck als bij de tuberculine-ongevoelige, normale personen. Wanneer de patiënt niet met het mycobacterium in aanraking was geweest, verliep de vaccinatie ook met radio-actief BCG als bij normale tuberculine-ongevoelige personen (Ström).

B. De histologische veranderingen die o.a. Lemming, Nègre en Bretey, Leider en Sulzberger, Bjørnstad hebben beschreven van de BCG-vaccinatie-plaatsen van normale tuberculine-ongevoelige personen worden op blz. 54 weergegeven. De vroeg optredende verschijnselen kenmerken zich door polynucleairecel-infiltraten. Na de

incubatie-periode nam men echter tuberkels waar, soms zonder verkazing (sarcoïde structuren) en Bjørnstad vermeldt 1x het beeld van een banale chronische ontsteking.

Bij tuberculine-ongevoelige patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck (zie blz. 56) namen Lemming, Warfinge, Bernstein en Bjørnstad sarcoïde structuren waar. Daarnaast worden beelden beschreven van banale ontsteking en beelden als bij tuberculose.

In het eigen onderzoek waren bij 24 normale tuberculine-ongevoelige personen 6 weken na de i.c. BCG-vaccinatie bij histologisch onderzoek de volgende veranderingen aanwezig.

Er werd 2 x een tuberculeuze structuur, 1 x het beeld van een banaal ontstekingsproces en 21 x een sarcoïde structuur waargenomen.

Bij de 43 patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck werd 6 x het beeld van een banaal ontstekingsproces gezien en 36 x een sarcoïde structuur.

Van een afwijkend gedrag van de Besnier-Boeck-patiënt t.o.v. normale personen mag eigenlijk niet gesproken worden.

Bjørnstad legt o.i. de vinger op de zwakke plek van de methode van onderzoek door zijn opmerking dat het tijdstip waarop men het onderzoek van de vaccinatie-plaats verricht, veel invloed heeft op het histologische beeld dat men verkrijgt. Hoe eerder men dit doet des te meer kans zal men hebben op een banaal ontstekingsproces, vervolgens een tuberculeuze verandering en hoe later men histologisch onderzoek verricht, des te meer sarcoïde structuren zal men zien. Bovendien injecteert men levende, dode virulente tuberkel-bacillen en hiernaast levend of dood BCG-vaccin in wisselende hoeveelheden.

Ook dit kan volgens Bjørnstad van invloed zijn op het histologisch beeld. De kleinste hoeveelheid bacillen welke nodig is om een zichtbare reactie te verkrijgen is de dosis, welke de meeste sarcoïde structuren geeft.

Men kan elkaars resultaten dus niet zonder meer vergelijken.

De hoop van Lemming en Warfinge om de weefsel-suspensie van de Kveim-test door BCG of andere tuberkel-bacillen-suspensies te mogen vervangen gaat, gezien de gelijke resultaten bij normale personen en Besnier-Boeck-patiënten, niet in vervulling.

C. Van Lemming is de gedachte afkomstig, de eventuele tuberculeuze etiologie van de ziekte van Besnier-Boeck met behulp van BCG-vaccin te controleren. Hij, evenals anderen (zie blz. 61), nam inderdaad waar dat het percentage van de patiënten waarbij na BCG-vaccinatie positieve tuberculine-reacties optraden veel lager was dan dit percentage bij gezonde tuberculine-ongevoelige personen (zie blz. 60). Daarentegen nam Rostenberg dit verschil niet waar. Bovendien is de verkregen tuberculine-gevoeligheid weer snel verdwenen (Israël et. al). Wij hebben in ons eigen onderzoek deze waarnemingen kunnen bevestigen. Slechts 8 van de 45 patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck werden na i.c. BCG-vaccinatie voor tuberculine gevoelig (10 T.U.). Zij hadden na een jaar

deze gevoeligheid weer verloren. Van de honderd tuberculine-ongevoelige, normale personen werden er 98 voor tuberculine (10 T.U.) gevoelig. Na een jaar waren zij dit nog.

De resultaten uit de literatuur en het eigen onderzoek stemmen goed overeen. Weliswaar moeten wij hier wijzen op bepaalde factoren die invloed hebben op de omslag van de tuberculine-reactie. Wanneer niet alle onderzoekers dezelfde methodiek, gelijke hoeveelheden van hetzelfde vaccin (op dezelfde plaats inspuiten) gebruiken, dan zijn hun resultaten ook niet helemaal te vergelijken. De in hun land toegepaste hoeveelheden en methodiek van vaccineren, levert wel een resultaat op dat te vergelijken is met de resultaten uit de routine BCG-vaccinaties. Rich, Boquet en Brétey hebben waargenomen dat de virulentie, het aantal dode of levende bacillen, de manier van toedienen (per os, subcutaan, intracutaan) nog even zo vele factoren vormen bij het tot stand komen van de tuberculine-gevoeligheid na vaccinatie.

Vervolgens speelt het gezin en de familie waaruit de persoon afkomstig is een rol in de omslag van de tuberculine-test. (Nissen, Meyer en Palmer).

D. Rostenberg kon geen verschil waarnemen tussen patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck en controle-patiënten wat betreft het verdwijnen van zuurvaste staafjes uit de injectie-plaats (*Mycobacterium tuberculosis*, *smegmatis*, *bacillus subtilis*).

In ons eigen onderzoek is geen verschil aanwezig in de bevindingen bij Besnier-Boeck-patiënten en normale personen.

§ 8 CONCLUSIES.

1. Het door Leider en Sulzberger beschreven verschijnsel van de vervroegde reactie op i.c. BCG-vaccin wordt bij patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck wel waargenomen. Dit komt echter ook bij normale personen voor.
2. Inderdaad worden bij de ziekte van Besnier-Boeck minder patiënten voor tuberculine gevoelig na de i.c. BCG-vaccinatie, dan bij normale personen.
3. Zowel bij normale personen als bij patiënten lijdende aan de ziekte van Besnier-Boeck kan terplaatse van de i.c. BCG-vaccinatie een pathologisch-anatomisch beeld ontstaan, dat een sarcoïde structuur vertoont.
4. Wanneer de patiënt lijdende aan de ziekte van Besnier-Boeck een defect zou vertonen in de ontwikkeling van een „vertraagde allergische” reactie zoals Israël et. al. menen te hebben aangetoond, dan is:
 - a. hierin de verklaring te vinden voor het uitblijven van de tuberculine-gevoeligheid na BCG-vaccinatie.
 - b. de tuberculine-ongevoeligheid na de BCG-vaccinatie geen argument voor een tuberculeuze aetiologie van de ziekte van Besnier-Boeck.
5. Het BCG-vaccin is geen substraat dat de weefsel-suspensie van de Kveim-reactie kan vervangen.

LITERATUUR

1. *H. Birkhaug* Allergy and immunity (iathergy) in experimental tuberculosis. Acta Tuberc. Scandin. 1937:11:199.
2. *H. Birkhaug* Allergy and immunity (iathergy) in experimental tuberculosis. Acta Tuberc. Scandin. 1939:13:163.
3. *E. B. Bernstein en H. J. Spoor* A study of the diagnostic value of BCG-vaccination-reaction. The Journal of Invest. Dermat. 1952:18:385.
4. *R. Björnstad* Intracutaneous tests with killed tubercle bacilli in patients with sarcoid of Boeck. Acta Dermato-Venereologica. 1948:28:151.
5. *G. Canetti* L'allergie tuberculeuze chez l'homme. Collection de l'Institute Pasteur. Edition Médicales Flammarion 1946.
6. *Th. Cornbleet* B.C.G.-vaccination in Sarcoidosis. Preliminary Report. Archives of Dermat. and Syph. 1950:62:697.
7. *H. Danbolt* Modern Trends in Dermatology. Butterworth and Co. London 1954.
8. *Chr. Duprez* Sur l'évolution de la sensibilité tuberculinique du cobay au cours d'inoculations répétées de BCG. C.R. de la Soc. de Biol. 1932:110:127.
Immunité antituberculeuze chez le cobay par injection répétées de faibles doses de BCG. C.R. de la Soc. de Biol. 1934:117:832.
9. *L. Edwards, C. Palmer, Knut Magnus* BCG-vaccination. World Health Organization Geneva. 1953.
10. *H. Fernbach* Ueber langdauernde, ohne klinisch wahrnehmbare Herd und Allgemeinreaktionen durchgeführte Tuberculinkuren und über den nach ihnen auftretenden Unempfindlichkeitszustand. Beitrage Zur Klinik der Tuberculose. 1932:81:302.
11. *G. J. Friou* A study of the cutaneous reactions to Oidiomycin, Trichophyten and mumps skin test antigen in patients with sarcoidosis. Yale J. Biol. and Med. 1952:24:533.
12. *R. Griesbach* Die BCG-Schutzimpfung. 1954. Georg Thieme Verlag.
13. *H. J. Israël, M. Sones, S. C. Stein, J. D. Aronson* BCG-vaccination in Sarcoidosis. Am. Rev. Tuberc. 1950:62:408.

14. *J. Jadassohn* Die Tuberculiden. Archiv. für Dermatologie und Syphilis. 1914, blz. 10.
Einige Erfahrungen über lokale Reaktionen mit Morsscher Tuberculin Salbe bei Hauttuberculose, Tuberculiden, Syphiliden und Lupus erythematosus.
Archiv. für Dermatologie und Syphilis. 1912, blz. 488.
Korrespondenbl. J. Schweiz. ärzte 1914:47.
Korrespondenbl. J. Schweiz. ärzte 1929:14.
15. *W. Jadassohn en H. Martenstein* Ueber die Abschwächung der Tuberculin Wirkung durch menschlicher Serum. Klin. Wschr. 1923:2: 210.
16. *A. K. Krause, D. Peters* Description of graphic records of the local allergy and immune reactions to tuberculous reinfection in guinea pigs. Am. Rev. Tuberc. 1920:4:551.
17. *M. Leider en M. B. Sulzberger* Studies in the allergy of infection I. Responses of the skin to BCG-vaccination in various categories of tuberculin sensitivity. The Journal of Invest. Dermat. 1949:13:249.
18. *M. Leider en A. B. Hijman* Studies in the allergy of infection II. Histologic responses of the skin to BCG-vaccination in various categories of tuberculin sensitivity.
The Journal of Invest. Dermat. 1950:14:459.
19. *R. Lemming* Development of Boeck's sarcoid at the place on the skin where a BCG-vaccination had been made in a case of Schauman's disease.
Acta Medica Scandinavica. 1942:CX:151.
An attempt to analyse the tuberculin anergy in Schaumann's disease (Boeck's sarcoid) and uveo-parotid fever by means of BCG-vaccination.
Acta Medica Scandinavica. 1940:103:400.
20. *H. Martenstein* Wirkung des Serums von Sarkoid-Boeck und Lupus pernio Kranken auf Tuberculin.
Arch. J. Dermat. u. Syph. 1921:136:317.
21. *J. Meyer* Tijdschrift voor sociale geneeskunde.
BCG-praemunisatie op het C.B. der Amsterdamse Ver. tot Bestrijding der Tuberculose.
22. *Y. Nabrada* Experimentelle Untersuchungen über den Infektionsmodus und die pathologische Anatomie der Tuberculose beim Affen.
Beiträge zur Klinik der Tuberculose. 1933:83:377.
23. *L. Nègre en J. Bretey* Vaccinations par le BCG par scarification cutanées. 2me édition. Masson et cie. Paris, 1947.
24. *A. R. Rich* The pathogenesis of tuberculosis. Ed. 2. Springfield, III. Charles C. Thomas, 1951.

25. *S. R. Rosenthal* Studies with BCG. IV. The focal and general tissue response and the humoral response. The intradermal route. *Am. J. Dis. Child.* 1937:54:246.
26. *A. Rostenberg et al.* Experimental studies in Sarcoidosis. *Archives of Dermat. and Syph.* 1953:67:306.
27. *A. Saenz* Geciteerd door Weissenback.
28. *J. H. Sands,
P. P. Palmer,
A. L. Meyock en
W. P. Greger* Evidence for serologic hyper-reactivity in sarcoidosis. *The American Journal of Medicine.* 1955: 19:401.
29. *R. Sohier en
J. Gregoire* Remarques sur le comportement après vaccination par le BCG de deux sujets de maladie de Besnier-Boeck-Schaumann.
30. *M. Sones en
J. Israël* Altered immunologic reactions in sarcoidosis. *Annals of Internal Med.* 1954:40:260.
31. *F. Urbach,
M. Sones en
H. L. Israël* Passive transfer of tuberculin sensitivity to patients with sarcoidosis. *New England Journal Med.* 1952:247:794.
32. *L. E. Warfinge* Ueber eine von abgetöteten Tuberkelbacillen hervorgerufene Hautreaktion bei Lymphogranulomatosis benigna. *Acta Tuberc. Scand.* 1945:19:126.
Boeck's sarcoid, experimentally produced by virulent human tubercle bacilli in a case of Schaumann's disease.
Acta Medica Scandinavica. 1943:114:259.
33. *R. J. Weissenback* Maladie de B.B.S.: Vaccination par le BCG. *Bull. Soc. franc. de dermat. et syph.* 1941:48:40.

DE LEPROMINE-TEST

§ 1 INLEIDING.

Algemeen neemt men aan dat de lepromine-test een reactie is, welke bij de lepra-patiënt de immuniteit van de lijder aangeeft.

Mitsuda was de eerste onderzoeker die over deze intracutane test publiceerde (1916) en op de klinische betekenis ervan wees. Lepromateus weefsel dat rijk is aan bacillen wordt in een mortier door wrijven in emulsie-vorm gebracht en daarna gedurende een uur op twee opeenvolgende dagen op 60 graden (C.) verhit. Deze emulsie wordt intracutaan ingespoten.

Bij de tuberculoïde vorm van lepra, de prognostisch gunstige vorm, ontwikkelt zich na 1 à 2 weken ter plaatse van de injectie een knobbeltje in de huid. Men noemt dit beloop positief. Deze laat optredende verandering op de plaats van de intracutane injecties is de klassieke positieve of Mitsuda-reactie. Daar een van zijn medewerkers, Fumio Hayashi, veel over deze lepromine-test gewerkt heeft, noemt men deze ook wel de reactie van Mitsuda-Hayashi.

Bij de nodeuze vorm van lepra, de prognostisch minder gunstige vorm, zou deze reactie bijna steeds negatief verlopen.

Bargehr maakte van bacillen-rijke knobbels van de nodeuze vorm van lepra een pasta, welke hij het lepromine noemde (1926). Hiermede probeerde hij naast het verrichten van intradermale testen voor diagnostische doeleinden, tevens een vaccin te bereiden. Het lukte hem hiermede na herhaalde entingen positieve huidreacties te verwekken.

De Langen controleerde deze onderzoeken van Bargehr en zorgde voor een verantwoorde bereidingswijze van de lepra-bacillen-suspensie, door deze te verhitten en in poedervorm te standaardiseren.

Bargehr en de Langen deden de waarneming dat contact-personen met lepra-patiënten een positieve reactie vertoonden en een klein aantal personen, die nooit met lepra-patiënten in aanraking waren geweest, een negatieve reactie hadden.

Men komt nu meermalen in de literatuur aanhalingen van deze onderzoeken van Bargehr en de Langen tegen en men wijst er dan op dat de lepromine-test een immunologische reactie zou zijn (Stein en Steperin, Prereira en Rotberg).

Gezonde contact-personen met een positieve lepromine-reactie zouden een goede afweer tegen de lepra bezitten en zij met een negatieve reactie geen weerstand. Deze laatsten mogen dan ook geen lepra-patiënten verzorgen.

Vóór Mitsuda heeft in 1906 Castellani al een lepra-bacillen-

suspensie bereid, welke als vaccin bedoeld was. Hij noemde deze leproline, mede naar analogie van het tuberculine (Lepromine-leproma).

Teague verrichtte in 1909 naar analogie van de reactie van von Pirquet bij lepra-patiënten percutane reacties met lepra-bacillen-suspensies. Bij 50 lepra-patiënten waren twee à drie zwak positieve reacties. Controlepersonen gaven geen reactie.

§ 2 METHODE VAN BEREIDEN VAN DE BACILLEN-SUSPENSIES.

Op het Zesde Internationale Lepra Congres in Madrid van 1953 zocht men naar een methode van bereiden, welke de volgende eigenschappen moet bezitten:

- a) De mogelijkheid van standaardiseren moet aanwezig zijn.
- b) De bereiding moet zeer eenvoudig zijn.
- c) Er moet een maximaal gebruik zijn van bacteriële substanties.

Er bestaan vier methoden om het uitgangsmateriaal voor de bacillen-suspensies te bereiden.

Integral Lepromin (L.I.), Bacillary Lepromin (L.B.), Purified Lepromin Proteïn (L.P.P.) en Visceral Lepromin (L.V.). Voor iedere hoeveelheid lepromine moet geïnfecteerd weefsel van verschillende ziektegevallen gebruikt worden. Men moet niet één weefsel alleen vertrouwen. Het doel van dit mengen is, de mogelijke antigenetekorten van het ene materiaal te kunnen compenseren met dat van een ander.

1) De Mitsuda-Hayashi-methode, zoals boven reeds is vermeld, geeft een ruw antigeen dat niet gestandaardiseerd kan worden (Integral Lepromin). Deze methode is de meest gebruikte, daar de bereidingswijze zo eenvoudig is. Meestal gebruikt men nu de modificatie van Wade bij de bereiding. Het gedurende 1 uur op 100 graden C. verhitte materiaal wordt in een mortier fijngewreven, terwijl gelijkmatig zoutoplossing wordt toegevoegd tot 20 cc. per gram weefsel. Daarna wordt het materiaal gefiltreerd. Dit geschiedt het best door een enkele laag zeer fijnmazige katoen of zijde. Nylon is hierboven te verkiezen, omdat dit laatste geen capillaire aantrekkingskracht heeft voor water. Phenol wordt toegevoegd aan de gefiltreerde suspensie, met een eindconcentratie van 0,5 %. Deze wordt daarna in de gewenste houders verdeeld en gedurende 1 uur op 100 graden C. verhit.

2) Er zijn twee methoden ontwikkeld voor het bereiden van een standaardoplossing van lepromine van gedroogde bacillen. Door middel van weging verkrijgt men dan bepaalde gestandaardiseerde sterkten (Bacillary Lepromin).

A. Bij de methode van Fernandez en Olmos scheiden zij de bacteriën af uit een suspensie van lepromateus weefsel in water, gebruikmakend van het verschil in soortelijk gewicht tussen de lepra-bacillen en de weefselsresten.

B. De methode van Dharmendra is de andere bereidingswijze, waarbij gedroogde en gedeeltelijk ontvette lepra-bacillen worden

verkregen door de lepra-knobbels met chloroform te extraheren. Lepromateus weefsel, meestal knobbels afkomstig van oren, een milt of lever van een overleden lepra-patiënt, wordt verhit en dan met chloroform in een mortier fijn gewreven. De chloroform wordt hierna afgepipetteerd. Het wrijven met chloroform wordt herhaald totdat een monster van het achterblijvend weefsel bacillen-vrij is. Alle chloroformmonsters worden dan verzameld. Een uitstrijkje hiervan vertoont vele bacillen en geen weefselresten meer. Gedurende 4 dagen worden deze in een ijskast bewaard. Hierna wordt boven een waterbad alle chloroform verdampt. Het residu bestaat uit lipoiden en bacillen. Het residu wordt in aether opgelost en dan gecentrifugeerd. Het sediment bestaat dan vooral uit bacillen. Teneinde de lipoiden volledig te verwijderen, worden de bacillen opnieuw met aether bewerkt, waarna gecentrifugeerd. Het sediment wordt in een vacuum gedroogd. Uitstrijkjes hiervan vertonen alleen bacillen en geen weefselresten. Standaard-lepromine wordt hiervan bereid door suspensie van 1 mgr. van het droge bacteriënpoeeder in 1 cc. van 0,5 % carbol-zoutoplossing. Het lepromine volgens Dharmendra bereid geeft nu vooral de vroege of Fernandez- en weinig late of Mitsuda-reacties.

3) Purified Lepromin Proteïne is de waterige oplossing van de wateroplosbare eiwitten uit de leprabacil, verkregen door middel van filtratie (Fernandez) of door middel van chemische extractie zoals beschreven door Paras.

4) Visceral Lepromin (L.V.). Het „visceral lepromin” wordt bereid uit inwendige organen, bij voorkeur uit lever en miltextracten van lepromateuze lepra-patiënten. Door de intensieve behandeling met chemotherapeutica, in het bijzonder D.D.S. (diaminodiphenyl sulphone), wordt het namelijk steeds moeilijker om lepromata, rijk aan bacillen te vinden. Bovendien biedt de lever door zijn omvang overvloedig meer materiaal rijk aan bacillen, dan de huidlepromata. Men kan uit het visceral lepromin weer „Integral”, „Bacillary” en „Purified” lepromine bereiden.

§ 3 DE REACTIE OP DE I.C.-INJECTIE VAN LEFROMINE.

Het i.c. inspuiten van de lepromine geeft, wanneer de reactie positief verloopt, aanleiding tot twee soorten reacties welke wat betreft hun interpretatie gelijkwaardig zouden zijn.

1) De vroege of Fernandez-reactie, welke na 24 en 48 uur optreedt om daarna te verdwijnen. Fernandez heeft als eerste deze vroege reactie onderzocht en op de klinische betekenis ervan gewezen.

Er ontwikkelt zich een erythemateus infiltraat, hetwelk na 24 en 48 uur zijn grootste afmetingen bereikt en na 72 uur weer afneemt. In sterk positieve reacties blijft het langere tijd bestaan in de vorm van een donkere kring om een later optredend knobbeltje. Deze reactie lijkt in zijn uiterlijk op de tuberculine-reactie. Bij het aflezen is het infiltraat het enige belangrijke van de reactie.

Reacties die alleen een erythema geven zonder infiltraat moeten als negatief of dubieus bestempeld worden, evenals reacties die eerder optreden en teruggaan of verdwijnen vóór 48 uur.

Op het zesde Internationale Lepra-congres in Madrid in 1953 wordt het aanbevolen na 48 uur af te lezen met de volgende criteria:

- a. Negatief (—). Geen reactie of erythema zonder infiltratie of erythema met infiltratie minder dan 5 mm. in diameter.
- b. Twijfelachtig (+ of —). Een erythemateuze-infiltratieve reactie met een infiltratie van meer dan 5 mm. en minder dan 10 mm.
- c. Zwak positief (+). Infiltraat meer dan 10 en minder dan 15 mm.
- d. Matig positieve reactie (++). Infiltraat 15-20 mm.
- e. Sterk positief (+++), meer dan 20 mm. infiltraat.

2) De late of Mitsuda-reactie.

Deze bestaat uit een knobbelvormige infiltratie die een week na de injectie begint en na 4 weken haar grootste afmetingen bereikt om daarna terug te gaan, atrophie van de huid of litteken nalatend. Zeer sterke reacties geven aanleiding tot ulceraties. Soms is de ontwikkeling versneld en bereikt zijn top voor de 3e week, terwijl het beloop soms vertraagd is, de grootste afmetingen na 4 weken bereikend. In negatieve of twijfelachtige gevallen is het verstandig na 60 dagen af te lezen.

- a. Negatief (—). Afwezig zijn van iedere locale reactie tussen de eerste en vierde week.
- b. Twijfelachtig (+ of —). Geringe infiltratie, moeilijk te voelen en minder dan 3 mm., op de plaats van de injectie.
- c. Zwak positief (+). Infiltratie tussen 3 en 5 mm. in diameter.
- d. Matig positief (++). Knobbeltje groter dan 5 mm.
- e. Sterk positief (+++). Wanneer ulceratie optreedt.

§ 4 DE HISTOLOGIE VAN DE LEPROMINE-TEST.

Volgens Hayashi zou Mitsuda in 1919 de histologie van de lepromine-reactie beschreven hebben en hij kan deze bevestigen. Hayashi nam korte tijd na de i.c. injectie waar, dat er zich verschijnselen van een acuut ontstekingsproces ontwikkelden. Hierna werd volgens hem het stratum papillare van de huid dunner, epitheloïde en reuscellen verschenen waarin vele lepra-bacillen gefagocyteerd waren. Om het gebied van het epitheloïde granulatie-weefsel bevond zich een wal van lymphocyten, waarin slechts zelden lepra-bacteriën aanwezig waren. Twee maanden na injectie vond hij nog lepra-bacillen in een litteken van een positieve leprominetest. Zij waren niet aangetast en nog zuurvast.

Esseveld en Cherardi gaven voor de Mitsuda-reactie dezelfde beschrijving.

Schujman bestudeerde de histologie van de lepromine-reactie bij de verschillende vormen van lepra. Hij wijst op het feit, dat bij de tuberculoïde-vormen van lepra na 48 uur een acuut ontstekingsproces kan worden waargenomen, met congestie en oedeem van de huid, met infiltratie van neutrophiele en eosinophiele leucocyten.

Op de vierde dag is het ontstekingsproces minder uitgesproken

aanwezig, het vertoont de neiging zich te localiseren rond vaten en klieren.

Na acht dagen verdwijnen de verschijnselen van acute ontsteking en een chronische vorm blijft over welke lymphocyten bevat, epitheloïde cellen en reuscellen (tuberculoïde granuloma).

Ook Rodrigues beschrijft het optreden van een acute ontstekingsreactie na 48 uur in dermis en epidermis, met intense infiltratie van polynucleaire leucocyten, lymphocyten en sterke vaatverwijding. Hij wijst erop dat gedurende de eerste dagen de reactie op tuberculine en lepromine in hun histologische structuur, altijd gelijk zou zijn. Hij meent in het feit dat de tuberculine-reactie een reactie is op het proteïne, een aanwijzing te vinden, dat de vroeg optredende roodheid bij de lepromine-reactie ook door een proteïne-factor veroorzaakt wordt. De late lepromine-reactie zou door een of meerdere andere bestanddelen worden verwekt, misschien ten dele afkomstig van het wasachtige kapsel van de leprabacil.

Büngeler en Fernandez hebben de Mitsuda-reactie in zijn verschillende fasen bestudeerd.

24 en 28 uur na de i.c. injectie van het lepromine volgens Mitsuda bereid wordt oedeem en hyperaemie waargenomen.

Leucocytaire infiltraten en beginnende necrose van het collagene bindweefsel worden beschreven. Na 48 uur is abscesvorming te zien. Zij zien veel eosinophile leucocyten in de infiltraten.

Zij wijzen er vooral op, dat er naast deze banale ontstekingsverschijnselen scherpe haardjes ontstaan van fibrinoïde zwelling en necrose van het losmazige bindweefsel, vooral in de adventitia van de kleinere vaten en het periglandulaire bindweefsel. Vooral in dit laatste zijn alle overgangen van fibrinoïde zwelling tot necrose toe aantoonbaar met hiernaast het binnendringen van histiocytaire elementen. Het gaat om de veranderingen van het losmazige fibrillaire bindweefsel dat sterk zwelt en tevens verlies van de celkernen vertoont. De vezels worden plomper, kleuren zich met eosine intensiever rood dan normaal voorkomt. De fibrinekleuring volgens Weigert geeft een zwakke blauwe kleur van de gezwollen vezels. Met behulp van zilverkleuring zijn in deze haardjes nog fijne fibrillen aantoonbaar. De fibrinoïde zwelling en necrose vinden Büngeler en Fernandez zeer belangrijk.

4 dagen na de i.c. lepromine-injectie worden vele kleine abscesjes en fibrinoïde necrose haardjes waargenomen, vooral rond de vaten. In de randen ervan veel lymphocyten.

8 dagen na de i.c. lepromine-injectie. Het oedeem is afgenomen, geen hyperaemie is meer aanwezig in het corium en op de lederhuid-papillen. De infiltraten bestaan vooral uit kleine lymphocyten, gewoekerde fibroblasten en histiocytaire elementen. Hier en daar is nog een eosinophile leucocyt te zien. Lymphoïde cellen liggen als een wal aan de rand van haardvormige infiltraten. Het centrum gaat de vorm aannemen van een haardje, dat bestaat uit grote protoplasma-rijke bleke epitheloïde cellen. In het centrum vaak reuscellen. Er zijn geen bacillen in gevonden.

12 dagen na de intracutane lepromine-injectie zijn de ontstekingsinfiltraten van de lederhuid-papillen en corium tot het aangrenzende vet en bindweefsel van de subcutis doorgedrongen. De infiltraten zijn in de omgeving van de lederhuid-papillen meer haardvormig en perivasculair gelegen. In het corium zijn zij vooral om haarfollikels en klieren gelegen en zij dringen van hieruit in brede strengen door de mazen van het collagene bindweefsel, zodat het beeld van de sarcoïdosis ontstaat. De infiltraten bestaan meestal uit een helder bleek centrum en een celrijke perifere lymphocytenwal. Het centrum bestaat uit grote protoplasma-rijke, bleek kleurbare cellen en voor een klein gedeelte uit sterk gevacuoliseerde epitheloïde cellen. In of om het centrum beschreven Büngeler en Fernandez talrijke reuscellen van Langhans, zoals bij tuberculose voorkomt. Daarnaast beschrijven zij nog een andere vorm van reuscel, welke in grootte met de eerste overeenkomt, daarentegen helemaal rond is en in het midden een grote, bijna de gehele cel vullende, vacuole bevat. Deze zou de kleuring vertonen van lipoiden. Om deze legt zich een syncytium dat kernrijk is en zich donkerder kleurt. Aan de rand bevinden zich weer een wal van lymphocyten en hieromheen een smalle zoom fibrillair bindweefsel, waardoor de infiltraten zijn afgegrensd. Het lukte hen niet zuurvaste staafjes aan te tonen.

30 dagen na de i.c. lepromine-injectie. Sterke atrophie van huid-epitheel. Volledig verstreken papillen. Hieronder tot aan het subcutane vetweefsel bevindt zich een infiltraat. Hierin zijn vele epitheloïde haarden met reuscellen van Langhans. In de ronde, dichte infiltratie van kleine lymphoïde cellen zijn geen bacillen aan te tonen.

Hiernaast hebben Büngeler en Fernandez het histologisch beeld beschreven na injiceren van het „filtraat“ van lepra-bacillen-suspensies volgens Mitsuda bereid.

Het filtraat van een lepra-bacillen-suspensie i.c. geïnjecteerd gaf na 24 uur een leucocytaire infiltraat waarin veel eosinophile cellen. Zij zagen hierin geen fibrinoïde zwelling van het bindweefsel en ook geen fibrinoïde necrose.

Wanneer de reactie met een filtraat van de lepra-bacillen-suspensie werd verkregen, was na 48 uur het histologisch beeld als volgt.

De infiltraten bestaan vooral uit kleine lymphocyten, met hier en daar een polynucleaire leucocyt. Talrijke eosinophile cellen zouden aanwezig zijn. Febrinoïde necrose en knobbeltjes hiervan ontbraken.

Het beeld zou volgens hen vooral door het voorkomen van vele eosinophile cellen doen denken aan een allergische subacute huidontsteking. Zij menen aangetoond te hebben dat de Mitsuda-reactie vanaf het begin op zijn minst histologisch alle kentekenen van een specifieke allergische reactie bezit. Al 24 uur na de i.c. lepromine-injectie zijn naast niet kenmerkende leucocytaire infiltraten eigenaardige omschreven fibrinoïde zwellingen van het bindweefsel aanwezig, vooral perivasculair en in de oppervlakkige

lagen van het corium en in de lederhuid-papillen. De leucocytaire infiltraten zijn volgens hen door Schujman en Rodriques waargenomen en als teken van een niet kenmerkende banale ontstekingsreactie beschreven. Al de tweede dag vertonen zich haardjes van omschreven fibrinoïde necrose om de kleine vaten. Het uiterlijk en de bepaalde eigenschappen die de fibrinoïde necrose bij verschillende kleuringstechnieken bezitten, zou met de typische bindweefselveranderingen, zoals bij allergische reacties door Klinge o.a. zijn beschreven, overeenkomen.

Daar in het „Früherythem“ van het „filtraat“ van het lepromine geen haardvormige fibrinoïde necrose optreedt en ook later geen epitheloïd-cellige haarden te zien zijn, menen Fernandez en Büngeler dat deze reactie niet specifiek is. Deze haarden zijn dan blijkbaar het resultaat van een rechtstreekse inwerking van de bacteriën, daar zij slechts optreedt na het inspuiten van een bacterie-suspensie. Zij citeren het werk van Faras, die met behulp van de was-fractie van de lepra-bacillen nog een (late) Mitsuda-reactie kon verkrijgen. Misschien is dan het was-omhulsel van de lepra-bacil verantwoordelijk voor de Mitsuda-reactie.

Bij het materiaal van Feldman et. al. was de vroege phase gekenmerkt door oedeem, vasodilatatie, necrose en cellulaire reactie vooral van polynucleairen en enkele histiocyten. Meerdere zuurvaste staafjes waren aanwezig.

De latere reacties waren vooral gekenmerkt door het aanwezig zijn van histiocyten met eventuele epitheloïd-cellige infiltraten. Enderteriitis was aanwezig, geen reuscellen van Langhans werden gezien.

Korte samenvatting:

Alle onderzoekers vinden als eerste reactie op de lepromine-injectie een banaal ontstekingsproces dat overgaat in het epitheloïdcellen granuloma (Mitsuda-reactie). Volgens Rodriques is de Fernandez-reactie in zijn histologische structuur gelijk aan de tuberculine-reactie.

Een tot meerdere weken na de injectie verschijnen de epitheloïdcellen granulomata.

Büngeler en Fernandez wijzen vooral op de fibrinoïde zwelling en necrose die in het begin van de reactie ontstaat. Het zou een uiting zijn van allergie (Klinge). Veel eosinophile cellen zijn in dit stadium ook aanwezig, hetgeen mede zou pleiten voor de allergische genese.

§ 5 INTERPRETATIE VAN DE REACTIE.

De interpretatie van de lepromine-test kan zeer lastig zijn.

Een positieve reactie wordt beschouwd als een uitdrukking van een zekere weerstand tegen het mycobacterium leprae, overeenkomend met de sterkte van de reactie. De reactie is geschikt voor de classificatie van de vorm van lepra waaraan de patiënt lijdt en voor het bepalen van de prognose.

De Commissie voor Immunologie van het Congres te Madrid gaf in haar rapport de algemene opinie als volgt weer:

Een positieve reactie wordt beschouwd als de uitdrukking van een zekere mate van weerstand tegen het *Mycobacterium leprae* en wel direct evenredig met de mate van positiviteit.

De reactie is bruikbaar voor de prognose en de classificatie bij lepra-patiënten. Indien de uitslag van de reactie niet overeenkomt met de klinische classificatie, de bacteriologische bevindingen of het histologische beeld, herhale men de proef.

De reactie is waardeloos als diagnosticum, vooral omdat de reactie ook positief kan zijn bij mensen, die geen verschijnselen van lepra vertonen noch ook ooit in contact zijn geweest met lepra-patiënten. Een negatieve lepromine-reactie wordt als volgt geïnterpreteerd:

a) Bij patiënten met lepra en contacten met open vormen van lepra wordt een negatieve reactie beschouwd als een teken van verminderde weerstand.

b) Bij gezonde personen, zonder contact met lepra-patiënten is de negatieve reactie zonder enige betekenis.

De reactie welke men verkrijgt hangt niet alleen af van de persoon waarbij deze verricht wordt, doch tevens van de manier van bereiden van het lepromine.

§ 6 WELKE BESTANDDELEN VAN HET LEPRACHINE ZIJN VERANTWOORDELIJK VOOR DE POSITIEVE LEPRACHINE-REACTIES?

Het oorspronkelijke lepromine bevatte weefselresten en lepra-bacillen.

Hayashi was van mening dat het de lepra-bacillen waren die de positieve lepromine-test veroorzaakten en toonde dit ook aan. De Langen, Stein en Steperin en Dharmendra deden dit eveneens. Met huidweefsel van een lepra-patiënt alleen werd geen positieve lepromine-test verkregen. Daarentegen verkregen Davey, Lopes de Faria en Kooy wel positieve huid-reacties met behulp van een normale huid-extract van een lepra-lijder. Deze waren echter zwakker dan de gewone Mitsuda-reactie (Rutgers).

Paras isoleerde uit lepromateus weefsel de lipoïde fracties. Hij verkreeg een fosfatide, een in aceton oplosbaar vet en een was. Alleen dit laatste gaf een positieve reactie bij een klein aantal lepra-patiënten, welke zwakker waren dan de gewone lepromine-test. Dharmendra oefent critiek uit op de bereidingswijze en meent dat er nog enkele lepra-bacillen in de was aanwezig zijn geweest, welke de late zwak positieve reactie hebben veroorzaakt. Zelf kan hij met een lipoïd fractie geen positieve testen verkrijgen. Harrell en Horne menen dat de Mitsuda-reactie wordt veroorzaakt door de lipoïden. Lopes de Faria verkreeg bij proeven op honden met de lipoïd fractie uit lepra-bacillen positieve Mitsuda-reacties. Er verscheen na 48 uur een papel, die zich in 3-4 weken tot een nodulus ontwikkelde.

Volgens Dharmendra was Henderson de eerste die het pro-

teïne uit het lepromateus weefsel wist te bereiden. Hij verkreeg hiermede de vroege of Fernandez-reactie. Het waren maar zwakke reacties.

Dharmendra onderzocht verschillende bestanddelen van lepra-bacillen welke door middel van zijn chloroform-methode waren verkregen. Hij isoleerde de verschillende chemische fracties door de bacillen te vermalen en daarna met verschillende stoffen te extraheren. Hij isoleerde de volgende fracties van de lepra-bacil: proteïne, polysaccharide, glyceride, phosphatide en was.

Van de proteïne verkreeg hij drie verschillende fracties: een nucleoproteïne, een in zuur en een in alcohol oplosbaar proteïne. De antigene eigenschappen van al deze fracties, evenals die van de lipoiden van de lepraknobbels en het residu dat achterblijft na het verwijderen van de lepra-bacillen, worden door middel van intracutane injecties bij lepra-patiënt en getest. Dharmendra kwam tot de volgende conclusies:

1. In de lepromateuze knobbel zijn het alleen de lepra-bacillen welke antigene eigenschappen bezitten. De bacillen geven Fernandez- en Mitsuda-reacties.

2. De proteïne-fracties gaven een Fernandez-reactie.

3. Alle drie de proteïne-fracties hadden antigene eigenschappen, het nucleoproteïne het meeste.

Dharmendra wil de Fernandez- en Mitsuda-reacties verklaren door middel van één en hetzelfde antigeen, n.l. het proteïne.

De Fernandez-reactie wordt veroorzaakt door het vrije antigeen van het geïnjecteerde materiaal en de Mitsuda-reactie door hetzelfde antigeen, dat langzaam vrijkomt doordat de bacillen terplaatse worden afgebroken. Lopes de Faria vond bij proeven op honden dat de in water oplosbare proteïne- en polysaccharide-fractie geen reactie gaven.

Kitano en Inoue bestraalden lepromateus weefsel met „ultra super-sonic“-stralen om de bacillen af te breken. Dit product gaf sterkere vroege en zwakkere late reacties dan de oorspronkelijke suspensie. Het filtraat van de bestraalde suspensie gaf sterkere vroege reacties dan de oorspronkelijke suspensie en in het geheel geen late reacties. Alleen oplosbare bestanddelen gaven een vroege reactie en vaste bacillaire elementen een late of klassieke Mitsuda-reactie. Fernandez, Harrell en Horne menen twee antigenen verantwoordelijk te moeten stellen n.l., het proteïne voor de vroege en de lipoïde-fractie voor de late reactie.

De Souza Lima meende drie componenten in het Mitsuda-antigeen aan te moeten nemen.

Een niet specifiek deel, afkomstig van het lepromateuze weefsel, een tweede factor, afkomstig van de zuurvaste staafjes in het algemeen en een derde kenmerkend deel, afkomstig van de lepra-bacil. Het zou volgens hem zo kunnen zijn, dat de proteïnen (door Dharmendra geïsoleerd) eigenschappen bezitten die „soort“-kenmerkend en andere die „type“-kenmerkend zijn. Intracutane injectie van andere zuurvaste bacillen (tubercel-bacillen, rattenlepra-bacil-

len, saprophyten) gaf een late reactie, analoog aan de Mitsuda-reactie. Ook bij de lepromateuze vorm van lepra, die practisch altijd een negatieve Mitsuda-reactie geeft, kwam dit voor. Het feit dat de leprabacillen-suspensie bij de lepromateuze vorm van lepra geen Mitsuda-reactie geeft en andere zuurvaste bacillensuspensies wel, schrijft Dharmendra toe aan een kenmerkende eigenschap van de lepra-bacil.

Ook de nucleoproteïne, alcohol-oplosbare en zuur-oplosbare proteïne van andere mycobacteria, vooral van de tuberkel-bacillen gaven positieve vroege reacties (als bij de tuberculine- en Fernandez-reactie) zowel bij de lepromateuze als tuberculoïde vorm van lepra.

Korte samenvatting:

Als het actieve bestanddeel van het lepromine werd o.a. door Dharmendra de eiwit-fractie en door Lopes de Faria de lipoïde-fractie genoemd.

Fernandez meent dat de eiwit-fractie voor de vroege en de lipoïde-fractie voor de late reactie verantwoordelijk is.

De Souza Lima meent dat er onder de eigenschappen die lepromine bezit er zijn, die „soort“- en andere die „type“-kenmerkend zijn.

De mededelingen van o.a. Lopes de Faria en Kooy zijn belangrijk. Met de huid van een lepra-patiënt zou een positieve lepromine- (Mitsuda-) reactie te verwekken zijn.

§ 7 DE LEPROMINE-TEST BIJ GEZONDE PERSONEN, PATIENTEN MET TUBERCULOSE EN DE ZIEKTE VAN BESNIER-BOECK.

U zult zich afvragen, wat heeft dit alles met de ziekte van Besnier-Boeck te maken?

Rabello veronderstelt dat de ziekte van Besnier-Boeck zou veroorzaakt worden door het mycobacterium leprae Hansen. Wanneer dit zo zou zijn, zou men een positieve lepromine-test mogen verwachten. Kissmeyer heeft het eerste de gedachte geopperd, dat tussen beide aandoeningen een aetiologisch verband bestaat.

Thans is de algemene opvatting dat de vroege of Fernandez-reactie, de allergische reactie is op de proteïnen van de lepra-bacil en dat de late of klassieke Mitsuda-reactie een immuniteits-reactie is.

Bij tuberculose is frequent een positieve Mitsuda-reactie aanwezig. Wanneer patiënten die aan de ziekte van Besnier-Boeck lijden positief verlopende Mitsuda-reacties zouden vertonen, dan zou dit de tuberculeuze genese steunen.

Als regel zal als over de lepromine-test wordt gesproken dit zijn de Fernandez- en of Mitsuda-reactie. Indien slechts een van deze reacties wordt bedoeld, zal deze met name worden vermeld.

Wij streven geen volledigheid na wat betreft de stroom van literatuurgegevens die vaak in moeilijk leesbare vreemde talen verschenen is.

Wij hebben mede een dankbaar gebruik gemaakt van de vele literatuurgegevens omtrent het verloop van de lepromine-test zoals Rutgers deze in zijn proefschrift „Lepra en Tuberculose” verzameld heeft.

Alvorens bij de patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck na te gaan hoe hun lepromine-test verloopt, zullen wij dit eerst bij gezonde personen en patiënten met tuberculose doen.

a. De lepromine-test bij gezonde personen welke ongevoelig zijn voor tuberculine.

Fernandez vond bij 139 patiënten voor (10 T.U. negatief), 3,6 % positieve Mitsuda-reacties.

Chaussinand vond in Saigon bij 89 personen (1.000 T.U. negatief), 19 % en in Parijs bij 21 personen 5 % positieve Mitsuda-reacties.

Dharmendra en Jaikaria vonden bij 103 personen, die voor tuberculine ongevoelig (100 T.U.) waren ook negatieve Mitsuda-reacties.

Rotberg vond bij 15 tuberculine-ongevoelige personen (1 T.U.) in New York dat allen positieve Mitsuda-reacties hadden.

Souza Campos en Rothberg vonden in Sao Paulo bij 14 tuberculine-ongevoelige personen (1.000 T.U.) 7,1 % positieve Mitsuda-reacties.

Rosenberg vond bij 148 gezonde personen er 43 % die voor tuberculine ongevoelig waren en toch een positieve Mitsuda-reactie hadden. Enkele hiervan waren 6 jaar tevoren wel voor tuberculine gevoelig.

Ustvedt vond bij 7 personen geen positieve Fernandez-reactie.

Convit stelde in New York bij 206 personen (10 T.U. negatief) vast dat 55,3 % positieve Mitsuda-reacties gaven.

Neyra Ramirez en Pesce vonden bij 100 tuberculine-ongevoelige personen bij 15 % een positieve Mitsuda-reactie.

Convit en Rassi vonden bij een zeer uitgebreid onderzoek lage percentages positieve tuberculine- (5 T.U.) reacties en hoge percentages positieve lepromine-reacties onder de normale bevolking van Venezuela. In totaal werden 8385 personen onderzocht. Hiervan waren er 5237 met negatieve tuberculine-reactie (5 T.U.). Van deze laatsten vertoonden 74,4 % positieve Mitsuda-reacties.

Korte samenvatting:

Opvallend zijn in het onderzoek van Convit en Rassi de hoge percentages positieve Mitsuda-reacties bij personen die voor (5 T.U.) negatief zijn. Dharmendra en Jaikaria o.a. vonden bij negatieve tuberculine-reacties ook negatieve Mitsuda-reacties. Daarentegen nam Rotberg waar dat 15 voor 1 T.U. ongevoelige personen allen een positieve Mitsuda-reactie gaven.

Ongevoeligheid voor tuberculine, ook in gebieden waar geen lepra voorkomt, sluit dus geenszins positieve lepromine- (Mitsuda-) reacties uit.

b. Bij gezonde personen die voor tuberculine gevoelig zijn.

Fernandez, Chaussinand en Jaikaria vinden in 100 % een positieve Mitsuda-reactie bij deze personen.

Bechelli, Lowe en Mc. Nulty, Erwit en Rassi benaderen de 100 %.

Harrell en Horne vonden sterk positieve Mitsuda-reacties bij al hun tuberculine-gevoelige personen (1/10 en 1/100 T.U.).

Hale en Molesworth vonden bij 51 gezonde kinderen er 74,5 % voor tuberculine gevoelig (10 T.U.). 29,4 had een positieve lepromine-test.

Kuper vond bij 114 gezonde mannen geen correlatie tussen tuberculine allergie (5 T.U.) en positieve lepromine-testen.

Guinto et. al. verrichtten een onderzoek bij 544 gezonde kinderen op de Philippijnen (1 T.U. en 250 T.U.). De frequentie van voorkomen en de intensiteit van de tuberculine-reactie was in dit onderzoek evenredig met de frequentie van het voorkomen en de intensiteit van de Mitsuda-reactie.

Korte samenvatting:

Behalve Kuper, Hale en Molesworth vonden andere onderzoekers frequent hoge percentages (tot 100 % toe) positieve lepromine-testen bij gezonde personen welke voor tuberculine gevoelig zijn.

c. De lepromine-test bij patiënten die aan tuberculose lijden.

Fernandez, Convit et. al., Harrell en Horne, Weeks en Smith o.a. namen positieve lepromine-reacties waar bij patiënten welke leden aan tuberculose. Zij menen dat deze positieve lepromine-reacties werden veroorzaakt door de infectie met de tuberkelbacil.

Stancioli en Pires vonden bij een onderzoek van 100 patiënten dat allen een positieve lepromine-test hadden, velen met een zeer sterke reactie.

Rotberg publiceerde de resultaten van de lepromine-test bij 126 patiënten in New York. 17,4 % patiënten hadden een positieve Fernandez- en 81,9 % een positieve Mitsuda-reactie.

Ustvedt nam bij 17 patiënten in 29,4 % een positieve Fernandez-reactie waar.

Neynra Ramez en Pesce vonden bij 100 patiënten bij 56 % een positieve lepromine-test.

Alleen Stanciolo en Pires verkregen bij hun patiëntenreeks in 100 % positieve lepromine-reacties.

Korte samenvatting:

De meeste onderzoekers zijn het er over eens dat een tuberculeuze besmetting in staat is mede te sensibiliseren tegen de lepromine-bacil. Behalve Stancioli en Pires vond niemand 100 % positieve lepromine-reacties bij patiënten met tuberculose. De sensibilisering is dus niet altijd aanwezig.

d. Zeer bekend is het positief worden van de lepromine-reactie bij kinderen na BCG-vaccinatie.

Vooral de Assis, Rosenberg, Souza Compos en Aun wijzen erop, dat ook na de door de Assis opnieuw gepropageerde BCG-vaccinatie per os, de lepromine-test positief wordt. Dit verschijnsel zou berusten op een „cross allergy”, welke door de verschillende mycobacteriën veroorzaakt wordt. Men heeft zelfs de BCG-vaccinatie gebruikt om personen tegen lepra te beschermen.

Souza Compos, Bechelli en Quagliato, Convit et. al. berichten over goede resultaten verkregen met prophylactische BCG-vaccinaties bij lepra-contact-personen. De tijd om dit te beoordelen is echter nog te kort. Er heerst onder de verschillende onderzoekers grote eenstemmigheid over het feit dat weken na de BCG-vaccinatie de lepromine-test positief gaat verlopen.

e. Bij patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck. (Zie tabel 7).

Convit in New York gebruikte de Mitsuda-reactie als eerste bij de Besnier-Boeck-patiënten. Geen van de vier patiënten gaven een positieve Fernandez-reactie en slechts een 'n positieve Mitsuda-reactie. Deze was gevoelig voor tuberculine.

Weeks en Smith in North Carolina onderzochten tien patiënten. De Mitsuda-reactie was positief bij drie van hen, waarvan twee reageerden op tuberculine. De 7 patiënten, welke negatieve lepromine-testen hadden, waren voor tuberculine ongevoelig.

Harrell en Horne onderzochten 5 patiënten waarvan er twee

TABEL 7.

Lepromine-test bij patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck.					
	Aantal	Fernandez		Mitsuda	
		Pos.	Neg.	Pos.	Neg.
Convit.	4	0	$\frac{1x}{43xx}$	1x	3xx
Weeks en Smith.	10	0	$\frac{2x}{108xx}$	$\frac{2x}{31xx}$	7xx
Harrell en Horn.	5	0	$\frac{3x}{52xx}$	$\frac{1x}{21xx}$	$\frac{2x}{31xx}$

x = Tuberculine-gevoelig.

xx = Tuberculine-ongevoelig.

een positieve Mitsuda kregen. Een hiervan was gevoelig voor tuberculine. Van de negatieve Mitsuda-reacties waren er twee gevoelig voor tuberculine.

Nelson zag ook negatieve reacties bij Besnier-Boeck-patiënten en meende dat de positieve reacties in % overeenkomen met een normale groep (persoonlijke mededeling aan Made). Geen aantal vermeld.

Smith nam bij 12 patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck waar, dat de tuberculine-ongevoeligen negatieve lepromine-testen hadden en dat bij de tuberculine-gevoelige patiënten ook de lepromine-test positief verliep (aangehaald door Pardo Castello).

Korte samenvatting:

Bij een klein aantal patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck werden lepromine-testen verricht. Men geeft in het algemeen aan, met uitzondering van Harrell en Horne, dat patiënten met positieve tuberculine-reacties, ook positieve lepromine-testen vertonen. Patiënten met een negatieve tuberculine-reactie vertonen veelal negatieve lepromine-testen.

§ 8 EIGEN ONDERZOEK.

1. DE LEPRIMINE-TEST.

Wij verrichtten deze test met 0,1 cc. lepromine volgens Mitsuda bereid. De reactie werd uitgevoerd bij een groep van normale personen welke wel en niet voor tuberculine gevoelig waren, lijders aan tuberculose en patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck. Bij het aflezen van de reacties hebben we de criteria aangehouden van het 6e Internationale Lepra Congres te Madrid (1953).

a. Bij normale personen.

1. Tuberculine-reactie positief.

Bij 79 normale personen werd de lepromine-test verricht (Tabel 8). Van deze 79 personen was de tuberculine-reactie 18 maal (22,8 %) positief (10 T.U.). Alle 18 tuberculine-gevoelige personen vertoonden een positieve Mitsuda-reactie.

Twee tuberculine-ongevoelige personen met positieve Mitsuda-reacties hadden tweemaal BCG-vaccinatie met levend vaccin ondergaan. Er was geen vroege of Fernandez-reactie aanwezig.

2. Tuberculine-reactie negatief.

Bij 59 normale gezonde personen, waarbij een negatieve tuberculine-reactie bestond werd de lepromine-test verricht. Zij vertoonden geen Fernandez- en geen Mitsuda-reactie.

b. Bij patiënten met longtuberculose.

Bij 32 patiënten met longtuberculose werd de lepromine-test verricht. Alle patiënten waren voor tuberculine (10 T.U.) gevoelig.

TABEL 8.

De lepromine-test bij normale personen.						
Aantal	Tuberculine		Fernandez		Mitsuda	
	Pos.	Neg.	Pos.	Neg.	Pos.	Neg.
20	18	2	0	20	20 matig (++)	0
59	0	59	0	59	0	59

TABEL 9.

De lepromine-test bij patienten met longtuberculose en pos. tuberculine-reactie. (10 T.U.)		
Aantal	Fernandez	Mitsuda
32	negatief : 26 zwak (+): 6	negatief : 0 matig (++) : 22 sterk (+++) : 10

TABEL 10.

De lepromine-test bij patienten met de ziekte van Besnier-Boeck.						
Aantal	Tuberculine		Fernandez		Mitsuda	
	Pos.	Neg.	Pos.	Neg.	Pos.	Neg.
31	4		matig (++) 1	3	matig (++) 3	0
		27	0	27	sterk (+++) 1	
					0	27
	Na BCG-vaccinatie					
17	5		matig (++) 2	3	matig (++) 3	2
		12	0	12	0	12

In Tabel 9 zijn de resultaten weergegeven. Hieruit blijkt dat er zes positieve Fernandez-reacties aanwezig waren en dat alle patiënten een positieve Mitsuda-reactie vertoonden.

c. Bij patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck.

Zoals uit Tabel 10 blijkt waren van de 31 patiënten, lijdende aan de ziekte van Besnier-Boeck, er vier (12,9 %) voor tuberculine

gevoelig (10 T.U.). Van deze laatsten hadden er één bij de lepromine-test een positieve Fernandez-reactie en alle vier positieve Mitsuda-reacties. De 27 patiënten welke voor tuberculine ongevoelig waren hadden negatieve Fernandez- en Mitsuda-reacties.

Bij 17 patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck, waarbij BCG-vaccinaties werden verricht, werden er 29,4 % na 8 weken voor tuberculine gevoelig. Twee patiënten hiervan vertoonden bij de lepromine-test een positieve Fernandez- en de drie andere patiënten een positieve Mitsuda-reactie. Voor de volledigheid vermelden wij, dat acht weken na de lepromine-test, bij geen patiënt die voor tuberculine ongevoelig was, een omslag van de tuberculine-reactie werd gezien.

Korte samenvatting:

Zowel bij normale personen die wel en niet voor tuberculine gevoelig waren, als bij lijders aan tuberculose, als bij patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck liep de lepromine-test parallel met de tuberculine-reactie (10 T.U.). Een uitzondering hierop vormden de twee personen welke ongevoelig bleven voor tuberculine ofschoon zij tweemaal met levend BCG-vaccin i.c. waren gevaccineerd. Zij vertoonden positieve Mitsuda-reacties.

2. HISTOLOGIE VAN DE LEPRIMINE-TEST.

Bij een aantal personen welke voor tuberculine gevoelig waren, werd de lepromine-test verricht.

Wanneer de vroege of Fernandez-reactie positief was, werd 72 uur na de intracutane injectie van lepra-bacillen-suspensie, histologisch onderzoek verricht. Acht maal werd in de lederhuid een infiltraat waargenomen dat hoofdzakelijk bestond uit mononucleaire cellen. Dit infiltraat is vooral om de vaten en klietjes gelegen. Er was ook fibrinoïde zwelling en necrose te zien. Eenmaal waren er vooral abscesjes en infiltraten bestaande uit polynucleaire cellen aanwezig met veel fibrinoïde necrose.

De positieve Mitsuda-reactie bij de 18 normale gezonde personen verkregen, vertoonden bij histologisch onderzoek 6 weken na de i.c. lepromine-injectie het beeld van epitheloïdcellig granulatieweefsel. Plaatselijk waren reuscellen van Langhans aanwezig. Negen maal werden nog zuurvaste staafjes gezien.

Bij 27 patiënten met longtuberculose, allen met positieve Mitsuda-reactie, werd histologisch onderzoek verricht, zes weken na de i.c. injectie. In de praeparaten van 11 patiënten werden nog zuurvaste staafjes gevonden. Alle praeparaten vertoonden het beeld van epitheloïdcellig granulatieweefsel met infiltraten om vaten en klieren. Soms werd een klein necrosehaardje gezien, vooral bij de ulcererende vorm van de reactie. Het aantal reuscellen van Langhans wisselde in aantal. Eenmaal waren er veel eosinophile leucocyten aanwezig.

Het histologisch beeld van de Mitsuda-reactie, 6 weken na de i.c. lepromine-injectie bij 7 patiënten met de ziekte van Besnier-

Boeck was gelijk aan dat bij normale personen verkregen. Bij vier patiënten werden in het praeparaat nog zuurvaste staafjes gevonden. De Kveim-test bij deze patiënten was negatief. Zij waren voor tuberculine gevoelig zonder voorafgaande BCG-vaccinatie.

§ 9 DISCUSSIE.

In het algemeen neemt men aan dat de Mitsuda-reactie bij de lepra-patiënten een immuniteitsreactie is. De Mitsuda-reactie is n.l. positief bij de tuberculoïde vorm van lepra en verloopt negatief bij de lepromateuze vorm.

De Fernandez-reactie, die vroeg optreedt zou een overgevoelighedsreactie zijn. Hiervoor pleiten de waarnemingen dat deze vorm van reageren veroorzaakt kan worden door proteïnen van de lepra-bacil, de macro- en microscopische gelijkenis met de tuberculine-reactie.

Het is merkwaardig dat bij gezonde personen wel positieve Mitsuda-reacties voorkomen doch slechts zelden de Fernandez-reactie werd gezien (Fernandez).

Uit de literatuurgegevens blijkt dat bij gezonde personen in gebieden waar geen lepra voorkomt positieve Mitsuda-reacties worden waargenomen. Bij patiënten met longtuberculose is dit eveneens het geval. Men neemt hierbij sterk positieve (ulcererende) Mitsuda-reacties waar. Het verschijnsel zou o.a. veroorzaakt worden door overgevoeligheid tegen het mycobacterium tuberculosis en berusten op para-allergie. Dit verschijnsel is een argument temeer voor de allergische aard van de lepromine-test, evenals ook het positief worden na BCG-vaccinatie. Hiervoor pleit tevens het positief worden van de lepromine-test door de proef vele malen te herhalen. Bargehr, die het „levende“ lepromine als vaccin gebruikte, stelde dit voor het eerst vast. De Langen en anderen hebben dit verschijnsel met „dood“ lepromine bevestigd. Bovendien nam men waar dat de reactie op het bij herhaling ingespoten lepromine vlugger verscheen.

Chaussinand nam bij apen na i.c. injecties waar dat hij op deze wijze weer negatieve reacties verkreeg en dus een specifieke desensibilisatie had verricht.

Dat het late optreden van de Mitsuda-reactie geen argument behoeft te zijn tegen de allergische aard van de reactie, hebben wij reeds bij de positieve Kveim-test besproken. Vooral de onderzoeken van Refvem, waarbij op het aanwezig zijn van phospholipoiden in de antilichamen wordt gewezen, zouden een verklaring kunnen zijn voor het ontstaan van de sarcoïde-structuur bij de antigeen-antilichaam-reactie.

Met normale huidweefsel als controle gebruikt kon Bargehr, de Langen, Stein, Steperin noch Fernandez, positieve lepromine-reacties verkrijgen. Daarentegen vermelden Davey, Lopes de Faria en Kooy dat hun dit wel gelukt is.

Kooy verkreeg ook positieve reacties met normaal leverweefsel. Deze reacties kwamen uitsluitend voor bij de tuberculoïde vorm

van lepra en waren steeds zwakker, vergeleken met de reacties verkregen met de bacillen-suspensies. Floch deelt mede dat extract van normale huid de lepromine-reactie aanzienlijk zou versterken. Rutgers ziet hierin een steun voor de opvatting van Kooy dat een niet specifieke factor de basis vormt van de positieve lepromine-reactie.

Gispen is van oordeel dat hier zeker aan het adjuvans-principe gedacht moet worden. Het zou best mogelijk zijn, dat de lepra-bacillen-suspensie de reactie op de niet specifieke huid-factor zou versterken.

De literatuurgegevens over het verband tussen tuberculine- en lepromine-reacties geven bij gezonden en tuberculosepatiënten aanleiding tot de veronderstelling, dat deze twee reacties niet geheel onafhankelijk van elkander zijn. Sommige onderzoekers vonden een duidelijke correlatie, zelfs ook in intensiteit. Andere onderzoekers (Kuper, Rotberg) vonden deze correlatie niet, doch wel sterkere lepromine-reacties bij tuberculosepatiënten. In ieder geval bereikt de correlatie, door de verschillende onderzoeken aangetoond, zelden 100 %.

Men moet dus aannemen, dat de sensibilisering van tuberculose tegenover de lepra-bacil niet constant en niet obligaats is.

Lowe geeft de volgende vier mogelijkheden aan ter verklaring van het samengaan van positieve tuberculine- en lepromine-reacties:

1. Contact met de lepra-bacil veroorzaakt overgevoeligheid tegenover de lepra-bacil en tegenover de tuberkel-bacil;
2. De onderzochte personen hebben contact gehad met beide bacillen. Deze twee mogelijkheden verwierpt Lowe, omdat in streken waar geen lepra voorkomt het samengaan van positieve tuberculine- en lepromine-reacties ook gevonden is;
3. Een onbekende factor, bijvoorbeeld infectie met de een of andere zuurvaste bacil veroorzaakt overgevoeligheid voor beiden lepra- en tuberkel-bacil. Er is geen directe steun voor deze hypothese, maar de mogelijkheid kan niet uitgesloten worden, omdat de zuurvaste Mycobacteria in grote getale en allerhande soorten in de natuur voorkomen.
4. Infectie met de tuberkel-bacil veroorzaakt overgevoeligheid voor de lepra-bacil (para-allergie).

Wanneer volgens J. Jadassohn patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck een hoge immuniteit tegen het mycobacterium tuberculosis zouden bezitten, zou men op basis van een mogelijke para-allergie positieve Mitsuda-reacties hierbij mogen verwachten.

Uit ons eigen onderzoek blijkt hier weinig van (Zie tabel 8, 9 en 10). Het door ons gebruikte lepromine werd volgens Mitsuda bereid. Wij hebben geen bacillary lepromine gebruikt omdat op het tijdstip van het onderzoek dit laatste niet verkrijgbaar was. Wij vonden een vrij streng samengaan van tuberculine-allergie en het optreden van positieve Fernandez- of Mitsuda-reacties. Dat bij de patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck frequenter een positieve Mitsuda-reactie zou optreden, hebben wij niet gezien. De posi-

tieve Fernandez- of Mitsuda-reactie liep hier parallel met het wel of niet gevoelig zijn voor tuberculine.

§ 10 CONCLUSIES.

Wij menen uit bovenstaande gegevens te mogen besluiten dat:

- a) De positieve lepromine-reactie in een land waar lepra niet endemisch is, veroorzaakt kan worden door het mycobacterium tuberculosis, welk verschijnsel kan berusten op para-allergie.
- b) Patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck welke voor tuberculine gevoelig zijn, vertonen als regel ook positieve Mitsuda-reacties.
- c) Patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck, welke gevoelig zijn voor tuberculine, kunnen een positieve Fernandez-reactie vertonen.
- d) De versterking en versnelling van de lepromine-test, zoals deze bij patiënten met tuberculose en tuberculoïde vorm van lepra voorkomt, kan veroorzaakt worden door de tuberkel- en lepra-bacil. Deze versterking behoeft niet op een z.g. „specifieke” werking te berusten, doch kan verklaard worden door het adjuvans-principe.
- e) Het negatief zijn van de Mitsuda-reactie bij de tuberculine-ongevoelige patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck, verleent geen steun aan de veronderstelling dat de ziekte van Besnier-Boeck een positief anergische vorm van een infectieziekte is, veroorzaakt door het mycobacterium tuberculosis.
- f) Dat de lepra-bacillen-suspensie voor het verrichten van de lepromine-test niet gestandaardiseerd kan worden is een ernstig nadeel voor het vergelijken van uitkomsten van hiermede verrichte onderzoeken.

LITERATUUR

1. *Pl. Bargehr* Zschr. of Immun. u Exp. Therapie. 47:1926:529.
2. *W. Büngeler und
J. M. Fernandez* Untersuchungen über den klinischen Verlauf und
die histologische Veränderungen allergischer
Reaktionen bei der Lepra.
Virchows Archiv. 305:1940:236.
3. *R. Chaussinand* Tuberculose et lepre, maladies antagoniques.
Int. Journ. of lepr. 13:1948:431.
4. *G. J. Cherardi* Skin lepromin reaction.
The Brooklyn Hospital Journal. 11:1953:44.
5. *J. Convit,
E. Rossi* Lepromin and tuberculin test in Venezuelan
leprosy foci.
Int. Journ. of Lepr. 22:1954:303.
6. *J. Convit,
Azulay,
J. D. Bernudez,
P. Saldage* The lepromin test in tuberculous persons in an
non endemic area Internat. Journal of Leprosy.
12:1944:60.
7. *T. F. Davey* Some observations on the role of allergy in
leprosy.
Lepr. Review 17:1948:42-62, 75-82.
Intern. Journal of Lepra. 16:1948:40-72.
8. *Dharmendra* The lepromin test, monografie nr. 1. Belra Medi-
cal Series, January 1948, London.
9. *Dharmendra,
Jaekaria S. S.* Studies of the lepromin test, Lepr. in India.
13:1941:40.
10. *H. Esseveld* Huid-reacties met lepra-entstof.
Geneeskundig tijdschrift voor Nederlandsch Indië.
77:1937:865.
11. *W. H. Feldman,
A. J. Karlson en
J. H. Grindlag* Lepromin: Mitsuda's reaction with experimental
observations in dogs. Annals of the New York
Academy of Sciences. 54:1951-1952:53.
12. *J. M. M. Fernandez* The early reaction induced by lepromin.
Internat. Journal of Leprosy. 8:1940:1.
13. *H. Floch* Enhancement of positivity of the Mitsuda-reaction
obtained with diluted antigen.
Int. Journ. of Lepra. 23:1955:295.
14. *H. Floch en
P. Destombes* Allergie et Para-allergie dans la lèpre.
Internat. Journal of Leprosy. 18:1950:177.
15. *C. S. Freund* Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 49:1942:548.
16. *R. S. Guinto et. al.* A note on the lepromin reaction in males and
females of the general population of Cordova.
Int. Journ. of Lepra. 23:1955:32.

17. J. H. Hale,
B. D. Molesworth Some observations on the allergie response in leprosy.
Abstract Int. Journal of Leprosy. 21:1953:593.
18. G. T. Harrell en
S. T. Horne The reaction to lepromin of patients with sarcoid or tuberculosis compared with that of patients in general hospitals with a discussion of the mechanism of the reaction. The American Journal of Tropical Medicine. 25:1945:523.
19. F. Hayashi Mitsuda's skin reaction in Leprosy. Internat. Journal of Leprosy. 1:1933:30.
20. Fr. Klinge Das rheumatische Frühinfiltrat, Ergebnisse der Allgemeinen Pathologie und Pathologischen Anatomie der Menschen und der Tiere. 34:1933.
21. R. Kooy Persoonlijke mededeling aan Rutgers. Proefschrift Lepra en Tuberculose, Amsterdam. 1956: blz. 36.
22. S. W. A. Kuper Tuberculin and lepromin sensitivity in the South African Bantu. Lancet. 14:1955:996.
23. C. de Langen The six International Congress of Leprology. 15:1954:137.
Madrid, October 3:1953:11. Leprosy Review: 25:1954:125.
Mededelingen van de dienst der Volksgezondheid. 48:1929:28.
Specifieke huidreacties bij Lepra.
24. J. Lopes de Faria A contribution to the knowledge of the Mitsuda reaction.
Internat. Journal of Lepra. 19:1951:510.
25. J. Lowe,
P. Mc. Nultey Tuberculosis and leprosy. Review. 24:1953:6.
26. H. W. Maë Leprosy and Sarcoid.
The Kveim-test in Leprosy patients and contacts. The Journal of Investigative Dermatology. 17:1951:337.
27. K. Mitsuda On the value of a skin to a suspension of leprous nodules.
Japanese Journ. Derm. Urol. 19:1916:697-798.
Reprinted Int. Journ. of Lepra. 21:1953:347-358.
Proc. of II Intern. Lep. Conf. 1924, Strasbourg.
28. Nelson de
Souza Compos B.C.G. in the prophylaxis of Leprosy.
A. preliminary report. Internat. Journal of Leprosy. 21:1953:307.
29. Neyra,
Ramirez,
J. H. Pesce The study in 288 cases of the immunological correlation between leprosy and tuberculosis.
Abstract. Int. Journal of lepr. 21:1953:124.
30. V. Pardo-
Castello Cross immunity in leprosy and tuberculosis.
Int. Journ. of leprosy. 19:1951:217.

31. *J. N. Rodrigues* Observations on the leprolin (Mitsuda) reaction. Internat. Journal of Leprosy. 6:1938:11.
32. *J. Rosenberg, Griesbach* Die BCG-Schutzimpfung blz. 168. Georg. Thime Verlag 1954, Stuttgart.
33. *A. Rotberg, L. M. Bechelli, H. Keil* The Mitsuda reaction in a nonleprous area. Int. Journ. of Lepr. 18:1950:209.
34. *A. W. Rutgers* Proefschrift, Amsterdam 1956. Lepra en Tuberculose.
35. *De Souza Lima* M. Rev. Brasileira Leprol. 6:1938:373. Aangehaald door Dharmendra.
36. *S. Schujman* Histologica de la reaction de Mitsuda, Estados progressivo y comparativo de las reaccinones tusolares que provoca en las diversas formas clinicas de lepra. Revista Brasileira de leprologia. 4:1936:469.
37. *J. Stancioli, M. Fires* The Mitsuda reaction in tuberculous patients, abstract. Int. Journal of lepr. 21:1953:126.
38. *H. A. Stein en M. J. Steperin* Die spezifische Allergie bei Leproesen. Med. Tijdschr. voor hygiëne Microbiologie en Serologie. 1:1934:209.
39. *O. Teague* The cutaneous reaction in leprosy. Preliminary report. The Philippine Journal of Science. 4:1909:323.
40. *H. J. Ustvedt* Observations on the lepromin test abstract. Int. Journ. of Lepra. 20:1952:459.
40. *K. D. Weeks en D. T. Smith* Lepromin skin tests in Boeck's Sarcoid. Tropical Medicine 25:1945:519.
41. *E. M. Paras* Chemical fractionation of Leprotic nodules, Isolation of the lipid fractions. The Philippine Journal of Science 66:1938:155.

DE KVEIM-TEST

Op de oude afdeling van de dermatologische universiteitskliniek te Oslo, waar C. Boeck gewerkt heeft, werd door Kveim een onderzoek verricht om meer inzicht te krijgen in de aetiologie van de ziekte van Besnier-Boeck.

De resultaten hiervan werden in 1941 gepubliceerd.

Iedere patiënt met de ziekte van Besnier-Boeck werd uitvoerig klinisch onderzocht. Bovendien werd van ziek weefsel op de voedingsbodem van Löwenstein, Besredka en Petragnani gekweekt. Ook caviae, konijnen en kippen werden hiermede geënt en dit alles met een negatief resultaat. Hij kon geen tubercel-bacillen aantonen.

Hierna veronderstelde men dat de ziekte van Besnier-Boeck een aandoening „sui generis” zou zijn.

Pogingen om in het bloed een complement-binding à la Bordet-Gengou te vinden, liepen op niets uit.

Met een weefsel-suspensie, naar analogie met de reactie van Frei, gelukte het aan Kveim een huidreactie te verwekken, welke specifiek leek te zijn. De reactie-papel bij een positieve Kveim-test komt laat opzetten, gewoonlijk in één tot vier weken, ter plaatse waar de weefsel-suspensie i.c. is ingespoten. Er ontwikkelt zich een blauw-rood papeltje, dat niet pijnlijk is en maanden kan blijven bestaan. Van een directe of in de eerste dagen optredende kenmerkende reactie na injectie van de klier-suspensie, zag en beschreef Kveim niets. Hij meldt een treffende gelijkenis met de spontaan ontstane huidafwijking bij de ziekte van Besnier-Boeck, welke waarneming door anderen later wordt bevestigd (Danbolt). Het grote verschil is echter dat de Kveim-test spontaan verdwijnt. Merkwaardigerwijze vertoont het histologisch beeld van de geëxcideerde papel een sarcoïde bouw. Van de 13 patiënten, lijdende aan de ziekte van Besnier-Boeck, hadden 12 een positieve reactie van Kveim.

Kveim geeft een uitgebreide documentatie bij zijn voorlopig verslag en meent met een specifieke huid-reactie te doen te hebben en niet met een histologische „manier van reageren” van de Besnier-Boeck-patiënt.

Zijn i.c. huidtest zou volgens Kveim een allergische reactie zijn.

Het eerste geval van C. Boeck's „multiple benign sarcoïd of the skin” is op oudere leeftijd door Danbolt nog op de Kveim-test onderzocht. In 1899 is deze patiënt in Noorwegen en in Amerika tegelijk door Boeck gepubliceerd. De eerste waarnemingen dateren van 2 september 1896. De patiënt was toen 37 jaar oud.

In de zomer van 1940 werd de toen 80-jarige man bij Salvesen opgenomen met een hypernephroma van de L. nier, met metastasen in Re. nier en Li. long. Er waren geen aantoonbare veranderingen meer van de ziekte van Besnier-Boeck. Bij obductie werd hier ook niets van gevonden. In de huid van het gezicht, vooral voorhoofd en slapen, waren littekenachtige veranderingen te zien, enkele met teleangiectasieën, terwijl de neuspunt gele vlekjes vertoonde, welke verdwenen wanneer erop gedrukt werd. Lymphklier-zwellingen waren afwezig. Zijn Kveim-test was positief.

Voordat Kveim zijn onderzoek deed, hadden Williams en Nickerson in 1935 mededelingen gedaan over een specifieke huidreactie bij patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck. Zij verkregen een weefsel-suspensie uit een stukje zieke huid, dat naar zij zeggen, werd bewerkt als het klierweefsel bij de reactie van Frei. Zij spoten 0.05 — 0.15 cc. intracutaan in bij vier patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck en bij vier controle-personen.

Bij de patiënten verscheen 24 uur na de intracutane injectie een rode papel, omgeven door een rode hof. 36 Uur na de injectie was de papel 7 mm. en de rode hof 15 mm. en was de reactie op zijn sterkst. Hierna nam zij af en na een paar dagen was het erythema verdwenen, na een week de papel.

De controle-patiënten reageerden niet.

Van een laat optredende reactie na injectie van de weefsel-suspensie is door Nickerson en Williams geen mededeling gedaan. In de Amerikaanse literatuur noemt men deze test: de Nickerson-Kveim-reactie.

§ 1 DE WEEFSEL-SUSPENSIE VOOR HET VERRICHTEN VAN DE KVEIM-TEST.

Het blijkt dat waar in de literatuur gesproken wordt over de Kveim-test, er geen overeenstemming is in de bereidingswijze van de weefsel-suspensie en de aard van het materiaal waarvan men uitgaat.

We zullen daarom eerst een poging doen te beschrijven de wijze waarop verschillende onderzoekers hun weefsel-suspensie bereidden.

a. Aard van het materiaal.

Dit moet weefsel zijn, afkomstig van een lijder aan de ziekte van Besnier-Boeck, en dat de pathologische-anatomische veranderingen hiervan vertoont.

Kveim zelf gebruikte hiervoor lymphklieren en huidknobbeltjes.

Williams en Nickerson gingen bij hun oorspronkelijke test uit van huidweefsel en later van de milt.

Putkonen beschrijft niet gepubliceerde proeven van Kissmeyer, welke lymphklieren gebruikte.

Putkonen deed de test met huid, tonsillen en lymphklieren-suspensies en weefsel afkomstig van een positieve Kveim-test.

Danbolt heeft materiaal gebruikt afkomstig van lymphklieren en milt, doch ook van een positieve Kveim-test.

Nelson nam huidweefsel en lymphklieren.

Silzbach en Ehrlich beschikten over milt en lymphklieren van patiënten die aan een actieve vorm van de ziekte leden.

Rogers en Haserick gebruikten lymphklieren, van verschillende patiënten, als materiaal ter bereiding van een weefsel-suspensie. Zij wijzen erop dat de patiënten moeten lijden aan een actieve vorm van de ziekte van Besnier-Boeck.

Korte samenvatting:

Men heeft verschillende weefsels gebruikt als uitgangsmateriaal voor het verkrijgen van een weefsel-suspensie voor het verichten van de Kveim-test. Voorwaarde is, dat het weefsel de voor de ziekte van Besnier-Boeck kenmerkende veranderingen vertoont b.v. huidweefsel, tonsillen, lymphomen, miltweefsel en het weefsel afkomstig van een positieve Kveim-test.

b. Bereiden van de weefsel-suspensie.

Kveim deelt in zijn oorspronkelijke publicatie mede, dat zijn methode van bereiden van de weefsel-suspensie, analoog was aan die welke Frei gebruikte voor zijn test bij het lymphogranuloma inguinale. Frei geeft de volgende methodiek aan:

De geaspireerde inhoud van lymphogranuloma inguinale bubonen wordt al naar zijn viscositeit 4 a 6 maal verdund met physiologische zoutoplossing. In ampullen worden deze suspensies de eerste dag gedurende twee uren, de volgende dag gedurende een uur op 60 graden C. verhit.

Putkonen zou de methode van Kveim volgens diens schriftelijke mededelingen „im groszen und ganzen” opgevolgd hebben bij het bereiden van de weefsel-suspensie. Het verkregen zieke weefsel wordt gewogen en in een steriele mortier fijngeknijpt. Met steriel zand wordt het tot een homogene brei gemalen.

Steriele physiologische zoutoplossing wordt toegevoegd en wel in wisselende hoeveelheden t.o.v. het gewicht, in 1:3, 1:5 en 1:10. Het zand wordt door middel van langzaam centrifugeren verwijderd. De zó verkregen suspensie wordt gedurende twee uren op een waterbad op 60 graden C. verwarmd. De suspensie blijft dan een dag op kamertemperatuur staan en wordt dan weer gedurende een uur op 60 graden C. verwarmd.

Danbolt en Nilssen bereiden hun weefsel-suspensie als volgt: Het weefsel wordt gewogen en fijn geknijpt en gesneden. Het wordt tot een pasta fijn gewreven in een mortier, waarna physiologische zoutoplossing 1:10 wordt toegevoegd. De suspensie wordt over enkele lagen gaas gefiltreerd, teneinde grovere weefseldeelen te verwijderen. Het mengsel wordt gedurende twee uren op een waterbad van 60 graden C. verhit, hetgeen de volgende dag wordt herhaald. Steriliteits-controle-proeven worden nu verricht.

De steriele suspensie wordt verdund met dezelfde hoeveelheid physiologisch zout, waaraan $\frac{1}{2}\%$ phenoloplossing is toegevoegd.

Silzbach en Ehrlich: Onder steriele voorwaarden wordt het weefsel grondig fijn gewreven met tien maal het volume aan physiologische zoutoplossing. Zij gebruikten geen zand om het te malen. De grotere weefseldelen worden verwijderd. De suspensie wordt op 60 graden C. verhit gedurende een uur op twee achtereenvolgende dagen. Aerobe en anaerobe wordt gekweekt om de steriliteit te toetsen. Een conserverend middel wordt toegevoegd. Tijdens de bereiding moet nauwlettend worden toegezien dat geen katoenvezels van gazen worden meegenomen in de suspensie. Uiteindelijk ziet de suspensie melkachtig-wit. Het sediment bevat „the finely ground up pulp“, celresten, bloed, bindweefsel, bloedvaten, zenuwen en vetweefsel.

De methode van Rogers en Haserick:

Lymphklieren van patiënten met een actieve vorm van de ziekte van Besnier-Boeck werden verwijderd en opgeslagen bij — 10 graden C. Zij werden op steriliteit gecontroleerd. Wanneer een suspensie nodig was, werden de klieren gemengd en fijn gemalen in een mortier. Physiologisch zout werd toegevoegd, alnaar het gewicht was, in een verhouding van 1:10. Waterige merthiolate oplossing 1:10.000 werd als conservans toegevoegd, dan volgt passage door een laag van 8 à 10 natte gazen, waarna verdeling in flesjes met rubberdop. Hierin wordt de inhoud gesteriliseerd, door verhitten gedurende een uur op twee opeenvolgende dagen op 60 graden C.

Korte samenvatting:

De bereiding van de weefsel-suspensie gebeurt bij de verschillende onderzoekers niet geheel uniform, doch allen doen in principe hetzelfde. Alleen Putkonen wijkt hiervan af, daar hij om het weefsel fijn te malen zand gebruikte. Dit zand tracht hij later door langzaam centrifugeren weer te verwijderen.

c. Bewaren van het materiaal.

Putkonen bewaarde evenals Rogers en Haserick de steriele suspensie in de ijskast (Temperatuur niet aangegeven). Hij vermeldt dat na drie jaar de weefsel-suspensie nog positieve reacties gaf. Volgens Silzbach en Ehrlich kan het op kamertemperatuur bewaard worden en blijft dan gedurende drie jaren zijn werkzaamheid behouden. Zij bewaren hun suspensie voor routinegebruik in de ijskast op 4 graden C. Rogers en Haserick doen dit ook. Hun langste tijd dat een monster weefsel-suspensie werd bewaard was 18 maanden. Zij namen gedurende deze tijd geen veranderingen van de sterkte waar.

d. Toetsen op steriliteit.

Algemeen is men het er over eens, dat alvorens de weefsel-

suspensie gebruikt wordt, steriliteits-proeven moeten worden verricht, vooral ook op anaerobe bacteriën. Cavia-proeven en Löwenstein-cultures moeten negatief zijn.

Silzbach en Ehrlich kweekten ook nog op schimmels.

e. *Chemische eigenschappen.*

Rogers en Haserick deden stikstof, phospholipide en cholestérine bepalingen van de weefsel-suspensies en van een normale lymphklier en van een normale milt ter controle. Deze werden voor wat betreft de totale eiwit-bepaling verricht van een gecentrifugeerde en van een niet gecentrifugeerde suspensie, teneinde de vaste deeltjes wel of niet te verwijderen.

De getallen zijn uitgedrukt in mgr. % van de 10 % oplossing:

Eiwit- en lipide-bepalingen van Kveim en controle weefsel-suspensies (10 % oplossing).

Eiwit (Biuret methode)		Phospho- lipiden		Totaal cholesterol
	Niet gecentrifugeerd	Gecentrifugeerd	Niet gecentrifugeerd	Niet gecentrifugeerd
Normale milt	1200 mgr. %	200 mgr. %	3,4 mgr. %	21 mgr. %
normale lymph.	350 "	100 a "	0,3 "	2 "
sarcoide "	550 "	100 a "	0,8 "	4 "
mengsel Sarc.				
lymphklieren	600 "	100 a "	0,4 "	3 "

a) beneden de ondergrens van betrouwbaarheid voor de gebruikte methode.

Deze bepalingen geven lage waarden voor het lipiden-gehalte in vergelijking tot de duidelijke hoge waarden van de eiwitfracties van de weefsel-suspensies.

Nelson meent uit het door Putkonen waargenomen en o.a. door Danbolt bevestigd feit, dat de weefsel-suspensie tot op zekere hoogte thermostabiel is, te moeten concluderen dat de werkzame component een lipoïd of lipoïd-koolhydraat-structuur bezit.

Danbolt kon met aether geen werkzaam extract van weefsel-suspensie verkrijgen. Volgens Silzbach en Ehrlich lukte dit met water ook niet.

Een weefsel-suspensie werd door Rogers en Haserick met aether gewassen en de opgeloste lipiden werden verwijderd. De overbleven (met aether gewassen) suspensies gaven dezelfde verandering als de oorspronkelijke suspensie, behalve dat de papels groter waren en histologisch de reactie quantitatief groter was.

Of het aether-extract al of niet bruikbaar was, wordt niet vermeld.

Het werkzame principe gaat volgens Danbolt door oplossen in physiologisch zout of neerslaan door phenol na verloop van tijd verloren.

f. Fysische eigenschappen.

Er moeten corpusculaire deeltjes aanwezig zijn, wil men positieve reacties verkrijgen.

Door middel van centrifugeren toonde Putkonen aan, dat het actieve principe met het sediment naar de bodem gaat, daar de er boven verblijvende heldere vloeistof volledig inactief was.

Danbolt en Nelson toonden aan, dat Berkefeld-filtraten van de weefsel-suspensie geen reactie meer gaven. Wanneer men de geabsorbeerde stoffen weer vrij maakte, gaven deze fraaie papels.

Bij zorgvuldig wrijven verkregen Rogers en Haserick zeer kleine deeltjes. Bij staan kwam er geen heldere vloeistof boven, maar meer een opalescerende laag. Bij centrifugeren met een toerental van 2500 p.m. gedurende een uur, was nog opalescentie aanwezig. Toch gaf deze nog een positieve test, maar deze was quantitatief minder dan wanneer de suspensie van tevoren geschud was. Bij ultracentrifuge op 30.000 p.m. zakten alle deeltjes, en de heldere bovenlaag kon geen papel meer verwekken.

Putkonen, Danbolt, Lomholt, Rogers en Haserick wezen erop, dat de suspensie koken kan verdragen. Putkonen zag dat 20 minuten verhitten op 100 graden C. geen vermindering bij gebruik liet zien. Langer verhitten doet de werkzaamheid verminderen.

Rogers en Haserick kookten weefsel-suspensie gedurende ½ uur. Zij namen waar, dat de Kveim-test hierna minder in omvang was en bij pathologisch-anatomisch onderzoek epitheloïde cellen bevatte.

g. Histologie van het basismateriaal en activiteit van de weefsel-suspensie.

Putkonen deed pathologisch-anatomisch onderzoek van het weefsel dat diende als bron voor de suspensie. Het bleek dat de histologische structuur niet altijd doorslaggevend was voor het wel of niet aanwezig zijn van de werkzame factor.

Tonsillen met een typische Boeck-structuur kunnen slechts geringe papelvorming geven terwijl tonsillen zonder deze structuur bruikbare weefsel-suspensies opleverden.

Kveim deelde Putkonen mede dat lymfklieren die niet vol met epitheloïde-cel-infiltraten zouden zitten, ongeschikt zouden zijn voor het bereiden van een weefsel-suspensie.

h. Controle-proeven verricht met suspensies van diverse aard.

Kveim kon met het antigeen van Frei bij patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck geen positieve testen verkrijgen.

De werkzame factor van de weefsel-suspensie zou ook in organen

aanwezig kunnen zijn van lijders aan een andere ziekte dan die van Besnier-Boeck. Putkonen verkreeg n.l. een positieve Kveim-test uit een lymphatische leucaemie-klier bij een patiënt met de ziekte van Besnier-Boeck.

Lomholt zag bij controle van Putkonen's proeven, nog een hele late reactie optreden. Lomholt vermeldt echter geen histologisch onderzoek hiervan, hetgeen zoals later zal blijken, door velen als eis gesteld wordt.

Eenmaal verkreeg Putkonen een positieve Kveim-test met een suspensie verkregen uit een tuberculeuze halsklier.

Het lukte Danbolt niet met een suspensie, bereid uit een Hodgkin-klier, een positieve huid-test te verkrijgen, bij patiënten lijdende aan de ziekte van Besnier-Boeck.

Nelson meende dat er wel veel met de reactie van Kveim wordt gewerkt, vooral in de Scandinavische landen, doch dat deze reactie niet volledig op waarde zou worden geschat. Velen beschouwen haar als een klinische curiositeit, inplaats van een diagnostisch hulpmiddel, dit vooral bij de viscerale vorm van de ziekte van Besnier-Boeck.

Hiernaast merkt Nelson op, dat er met verschillende menselijke weefsels reacties zijn verricht, maar dat hiermede onvoldoende controles bij gezonden en patiënten lijdende aan de ziekte van Besnier-Boeck werden uitgevoerd.

Zes maal zag hij bij patiënten met een positieve Kveim-reactie, ook met normaal miltweefsel-suspensie, een positieve reactie optreden, welke zowel macroscopisch als microscopisch van de echte Kveim-test niet te onderscheiden zou zijn.

In de Modern Trends in Dermatology vermeldt Danbolt een persoonlijke mededeling van Nelson, dat deze bij zijn latere onderzoekingen er slechts gedeeltelijk in slaagde, zijn eerste bevindingen met normaal miltweefsel te bevestigen.

Met behulp van calcium-sulfaatoplossing, collodion-deeltjes, gecoaguleerd kippeneiwit, pityrosporum ovale, ontvet menselijk spierweefsel, normaal menselijk lymphklierweefsel, olievrije soja-bonen phosphatides, verkreeg Nelson geen reactie bij intracutane injecties bij patiënten lijdende aan de ziekte van Besnier-Boeck.

Met behulp van Oost-Indische inkt en parafine-olie gelukte het Schaumann en Seeberg niet, sarcoïde reacties bij patiënten, lijdende aan de ziekte van Besnier-Boeck, te verwekken.

Danbolt kon noch met hersenweefsel, noch met normaal miltweefsel een positieve Kveim-reactie verkrijgen. Normaal lymphklierweefsel leverde niets op. Catgut-hechtingen gaven geen reactie.

Volk zou met Oost-Indische inkt i.c. een sarcoïde structuur verkregen hebben.

Putkonen kon met normale huid van een patiënt lijdende aan de ziekte van Besnier-Boeck en met carbolwater, geen positieve Kveim-testen verkrijgen. Daar hij de weefsel-suspensie bereidde door het materiaal met zand te malen, is het zeer wel mogelijk dat de reactie van Kveim een reactie zou zijn op kwarts. Door centrifugeren met bepaalde snelheid wordt dit kwarts verwijderd.

Putkonen, die 26 weefsel-suspensies allen op deze manier bereidde, zag echter dat maar bepaalde suspensies een werking hadden en velen niet.

Wanneer het kwarts verantwoordelijk zou zijn voor de werking, dan moesten zij volgens hem allen even werkzaam zijn. De kwarts-deeltjes, die als vreemd voorwerp aanwezig kunnen zijn, zijn volgens hem niet verantwoordelijk voor de positieve Kveim-test. Haxthausen verkreeg met aleuronaten en talk geen effect bij i.c. injectie bij patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck.

Refvem kon geen verschil in reactie bemerken op injectie van kwarts tussen patiënten lijdende aan de ziekte van Besnier-Boeck, normale personen en patiënten met een kwarts-granuloma.

Kleine kwartsdeeltjes geven ook bij normale personen een epitheelceldcellen-tuberkel. Epstein wijst erop dat er een tijd van enkele maanden tot tientallen jaren voorbij kan gaan eer de reactie op zand tot ontwikkeling komt.

Epstein kwam uit de ervaringen, opgedaan met silica-granulomen, tot een hypothese omtrent het ontstaan van de sarcoïd-achtige reactie.

In deze hypothese worden de volgende drie voorwaarden verondersteld:

- a Het ingebrachte agens moet gehydroliseerd worden.
- b. Er moeten hierbij asymmetrische kristallen ontstaan en dit veronderstelt dat SiO_2 aanwezig moet zijn.
- c De cellen moeten gesensibiliseerd worden ten opzichte van het opgeloste kwarts.

Löfgren et. al. zagen bij enkele patiënten welke vele jaren voordien een trauma of een operatie hadden ondergaan, in het litteken een granuloma ontstaan. Deze patiënten leden allen op het tijdstip waarop de reactie in het litteken ontstond aan de ziekte van Besnier-Boeck en hadden uitgebreide Röntgenologische longafwijkingen. Bij patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck waarbij een klier-biopsie volgens Daniëls werd verricht ontstond in 1/4 tot 3 jaar reeds in het litteken talk granulomen.

Zij stellen vooral de ziekte van Besnier-Boeck verantwoordelijk voor deze reactie op zand en talk.

Wade verkreeg met lepromine negatieve resultaten bij een paar patiënten.

Silzbach en Ehrlich gebruikten normale lymfklieren, normaal miltweefsel, bloed van de patiënt, tuberculine en coccidioidine met negatief resultaat.

Korte samenvatting:

Men heeft met verschillende weefsels, zowel met normale als met pathologische weefsels, suspensies bereid voor controle-onderzoek.

Putkonen verkreeg met een weefsel-suspensie van een leucemie-klier en met een tuberculeus ontstoken klier éénmaal een positieve Kveim-test.

Nelson verkreeg deze herhaaldelijk met een weefsel-suspensie van een normale milt. Met normale huid, normaal lymfklier-

weefsel, hersenweefsel, bloed, ontvet menselijk spierweefsel lukte dit niet, ook niet met calcium sulfaat collodion-deeltjes, gecoaguleerd kippeneiwit, pityrosporum ovale, olievrije sojabonen en Oost-Indische inkt.

i. *Dosering.*

Kveim spuit 0.2 cc. van de weefsel-suspensie i.c. in. Putkonen, Rogers en Haserick 0.1 cc. Williams en Nickerson 0.05-0.15 cc. Danbolt, Silzbach en Ehrlich 0.10-0.20 cc. Nelson 0.15 cc.

k. *Plaats van de intracutane weefsel-injectie.*

Bijna alle onderzoekers spuiten op de volaire zijde van de onderarm in.

Putkonen gebruikt de buitenzijde van het bovenbeen, daar hij ook met geconcentreerde zeer actieve weefsel-suspensies werkte en het optreden van ulceraties vreesde. Op deze plaats zouden de laesies niet zo opvallen. Hij ziet dan meer bloedingen terplaatse van de i.c. injectie dan op de volaire zijde van de onderarm.

l. *Het aantal gebruikte weefsel-suspensies.*

Putkonen geeft aan 26 weefsel-suspensies bereid en op activiteit onderzocht te hebben. De weefsels waren afkomstig uit tonsillen (10 x), huidknobbeltjes (6 x) en lymphomen (10 x). Van de tonsillen werd geen actieve, van de huidknobbeltjes 3 x en van de lymphomen 4 x een voldoende werkzame weefsel-suspensie verkregen.

Beerman en Leider gebruikten ieder één weefsel-suspensie.

Williams en Nickerson gebruikten minstens twee weefsel-suspensies.

Kveim en Danbolt geven geen aantal op, doch men krijgt wel de indruk dat meerdere suspensies gebruikt zijn.

Nelson geeft geen aantal op.

Silzbach en Ehrlich gebruikten weefsel van 15 patiënten afkomstig (lymphomen, milt en huidweefsel). Acht weefsel-suspensies welke van lymphomen afkomstig waren en twee weefsel-suspensies van milten, gaven positieve Kveim-testen.

Drie inerte weefsel-suspensies waren afkomstig van lymphklieren en twee van huidknobbeltjes.

Rogers en Haserick „poolen” hun lymphomen zonder een aantal op te geven.

§ 2 *HET VERLOOP VAN DE KVEIM-TEST.*

a. Bij patiënten lijdende aan de ziekte van Besnier-Boeck.

Zoals in de inleiding reeds werd vermeld, zagen Williams en

Nickerson 24 uur na de intracutane injectie van hun weefsel-suspensie een rode papel met een rode hof optreden welke na 36 uur haar maximale afmetingen bereikte. De papel was 7 mm. en de rode hof 15 mm. Na een paar dagen was het erythema verdwenen en na een week de papel.

Kveim zelf vermeldt van een vroeg optredende reactie niets, maar wel dat na één à vier weken terplaatse van de i.c. weefsel-suspensie-injectie zich een rood papeltje gaat ontwikkelen, dat niet pijnlijk is en weer verdwijnt.

Deze kunstmatige reactie zou macroscopisch sterk gelijken op de spontaan optredende huidafwijkingen bij de ziekte van Besnier-Boeck.

Williams en Nickerson vermelden dus alleen een vroeg (dagen), Kveim een later (weken) optredende reactie na de i.c. injectie van de weefsel-suspensie.

Putkonen vermeldt het optreden van beide reactie-vormen, n.l. de vroege en de late. Een dag na de injectie nam hij een infiltraat waar, met een helder rode kleur, dat in de volgende dagen kleiner werd, soms zelfs verdween.

Na „enige tijd” (1 à 4 weken) nam dit weer in omvang toe en werd groter dan de beginpapel. De 2e papel is dan helrood met een rode hof van enige mm. met een anaemische hof van enkele mm. om de papel. Later wordt de kleur van de papel blauwrood tot bruinrood. Op de papel komt een grijs vlekje en op het vlekje een blaasje.

Wanneer dit stuk gaat ontstaat een ulcus, dat weer bedekt wordt door een korst. Het ulcus heeft steile randen en deze zijn vaak ondermijnd. De bodem is met een necrotische massa bedekt, reinigt zich en wordt bekleed met rood granulatie-weefsel. In de rand-gebieden kruipt de necrose verder en het kan maanden duren eer het ulcusje genezen is. Het infiltraat bij een verdunning van 1 op 10 van zijn actieve weefsel-suspensie, moet 5 mm. bedragen, wil Putkonen de reactie positief noemen.

Met zijn actieve weefsel-suspensies begon de necrose wanneer de papel gemiddeld 8 mm. bereikte. Na het optreden van de necrose kan de papel nog wel wat doorgroeien.

Een snel opgroeiende papel voerspelt een vroeg optredende necrose. Hoe langzamer de papel groeit, hoe later de necrose verschijnt. Bij zeer laat ontstane reacties, die niet groter worden dan 5 mm. kan geen necrose optreden. Meer dan eens werd het normale verloop van de test door het optreden van secundaire infectie verstoord.

Danbolt beschrijft het verloop als volgt: i.c. injectie in een doses van 0.10-0.20 cc. veroorzaakt een tijdelijke reactie (door mechanische prikkels) ook bij normale personen. Maar bij patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck ontwikkelt zich na een paar dagen of in het verloop van de eerste twee weken, zelden later, een bruin-rood papeltje dat een eigenaardig traag verloop aan de dag legt.

Het blijft gewoonlijk meerdere maanden bestaan. In de eerste

maanden ziet men nog enige groei optreden. Spontaan wordt het papeltje kleiner en is in de meeste gevallen na een jaar verdwenen. Soms laat het een klein gepigmenteerd vlekje achter. De diameter van de papel is meestal 5 mm. en maar zelden wordt deze groter (zelfs tot 17 mm.). Klinisch komt het papeltje overeen met de spontaan optredende knobbeltjes in de huid van de patiënt.

Danbolt en Nilssen namen vier maal een latente periode van 1-6 maanden waar eer de papel tot ontwikkeling kwam.

Lomholt controleerde de Kveim-testen welke door Putkonen werden verricht en zag nog na 1 à 2 jaar vele laat optredende ulcerreuse reacties. Lomholt nam waar, dat bij enkele patiënten na het verrichten van meerdere Kveim-testen, de oorspronkelijke Boeckse huidafwijkingen verbeterden.

Moller zag dat negen jaar na de i.c. weefsel-injectie nog een positieve Kveim-test verscheen.

Danbolt zag evenals Rogers en Haserick zelden necrose optreden.

Rogers en Haserick beschrijven de vroeg optredende reactie op de i.c. weefsel-suspensie niet.

Silzbach en Ehrlich zien dat enkele dagen na de injectie een erythema optreedt, wanneer de test positief gaat verlopen. Bij negatieve testen ontbreekt dit erythema en nemen zij alleen het steekkanaal van de injectie waar. Bij een positieve test ontstaat meestal na een of twee weken een rood-purper papeltje dat langzaam gaat groeien. Het bereikt zijn maximale omvang na ongeveer vier à zes weken en meet dan 3 tot 8 mm. Zij zagen geen ulceratie optreden. Enkele papeltjes kregen korstjes en een paar verwekten centraal.

Korte samenvatting:

Williams en Nickerson beschreven alleen een vroeg optredende reactie na de weefsel-suspensie-injectie (dagen) en Kveim daarentegen alleen een late reactie (1 à 4 weken).

Later zien verschillende onderzoekers beide reacties vormen. Putkonen, Silzbach en Ehrlich.

De vroeg optredende reactie heeft bij Putkonen de vorm van een infiltraat, bij Silzbach en Ehrlich wordt het beschreven als een erythema. De laat optredende reactie beschrijft men als een papeltje, dat kan gaan ulcereren.

b. Bij normale personen en patienten die aan andere aandoeningen dan de ziekte van Besnier-Boeck lijden.

Putkonen nam bij 50 controle-personen waar dat het grootste deel met een klein, plaatselijk helder-rood infiltraatje reageerde op de i.c. weefsel-suspensie-injectie. Meestal verscheen dit infiltraat na 24 uur met een gemiddelde doorsnee van 2-3 mm. Na 2 à 3 weken verdween het infiltraat, dat dan blauwrood of bruin getint was. Soms trad 10 a 20 minuten na de injectie een bloeding op.

§ 3 DE WERKZAAMHEID VAN DE DIVERSE ORGAANSUSPENSIES.

Putkonen zag dat weefsel-suspensies uit tonsillen bereid, heftig verlopende, vroege reacties gaven. Volgens Danbolt zouden deze veroorzaakt worden door hun hoog toxinegehalte en met een kenmerkend beloop van de test niets te maken hebben. Zij gaven maar weinig positieve late reacties en deze waren zwak.

De sterkste reacties waren afkomstig van weefsel-suspensies bereid uit lymphklieren, al had Putkonen ook volslagen inactieve suspensies hierbij. Kveim, Danbolt, Silzbach en Ehrlich hebben dit bevestigd.

De huidknobbeltjes, als materiaal gebruikt voor de weefsel-suspensie, stonden in hun werking tussen die van tonsillen en lymphklieren in. Nelson en Danbolt bevestigden deze waarnemingen. Hiernaast zag Putkonen dat de donor van de lymphklier die een actieve weefsel-suspensie bleek te leveren, zelf hierop maar een zwak verlopende Kveim-test gaf. Silzbach en Ehrlich kunnen dit laatste niet bevestigen.

Zij namen waar dat lymphklier-suspensies niet werkzamer zijn dan milt-suspensies, maar de eerste bleven wel langer hun werkzaamheid behouden.

Wanneer de milt-suspensie wat ouder werd zagen Silzbach en Ehrlich niet kenmerkende reacties optreden, welke het macroscopische en histologische beloop van de test verstoorden. Het optreden van vrij heftige reacties door oudere milt-suspensies veroorzaakt, wordt ook door Danbolt vermeld, die daarom het gebruik hiervan ontraadt en bij voorkeur klierweefsel gebruikt. Nelson vermeldt dat milt-suspensies wanneer zij langer dan enige maanden worden bewaard bij iedereen een blijvende papel na i.c. injectie verwekken.

Korte samenvatting:

De werkzaamheid van de tonsillen is zwak en door het optreden van niet-kenmerkende, versturende reacties is dit weefsel niet geschikt voor de bereiding van een weefsel-suspensie. Milt-weefsel geeft na enkele maanden bewaren steeds een positieve reactie, waardoor ook dit weefsel minder geschikt wordt.

Huidweefsel geeft maar zwakke reacties. Lymphomen prijst iedere onderzoeker aan als uitgangsmateriaal voor het bereiden van de weefsel-suspensie voor de Kveim-test.

§ 4 DE HISTOLOGIE VAN DE POSITIEVE KVEIM-TEST.

1. Bij patiënten lijdende aan de ziekte van Besnier-Boeck.

Williams en Nickerson evenals Kveim, vermelden een treffende gelijkenis van het histologische beeld van de reactie-papel met dat van de spontane huidknobbeltjes bij de ziekte van Besnier-Boeck. Ook Danbolt wijst hierop. Kveim gebruikt hiervoor de naam

van sarcoïde structuur. Volgens Putkonen beschrijft hij dit als volgt: op de injectie-plaats bevinden zich hoopjes epitheloïde cellen die gedeeltelijk goed door bindweefsel-strengen zijn afgegrensd, enkele lymphocyten, enige reuscellen en geringe of geen necrose.

Putkonen kon de waarneming van Nickerson en Kveim bevestigen, dat het histologische beeld van een positieve huid-test overeenkomt met dat van de ziekte van Besnier-Boeck. Hij merkte wel een verschil op tussen de snelgroeiende, necrotiserende papel en de rustig, blauwrood verkleurde 'papel.

Histologisch hebben de langzaam groeiende reacties dezelfde structuur als de huidafwijking, zoals die voorkomt bij de ziekte van Besnier-Boeck.

In het corium ziet men dan afgegrensde groepen van epitheloïde cellen, met wat kleincellige infiltratie en enige reuscellen. De snelgroeiende reacties zijn door andere veranderingen gekenmerkt.

Opvallend zijn in een vroeg stadium de afwijkingen aan de collage-
ne vezels van het corium. Terplaatse van de reactie zwellen deze, hun grenzen worden vaag en hun kleurbaarheid verandert. Vaak ziet men ertussen kernresten, met hier en daar polynucleaire leucocyten. Deze necrotische bindweefselhaard is door een wal omgeven, aanvankelijk van lymphocyten en fibroblastachtige cellen, later vooral epitheloïde cellen. Bij sterkere reacties ziet men dat de infiltratie zich tot in de bovenste gedeelten van de subcutis voortzet, waar dan dikke celrijke septa de vetcellen scheiden. Nog later verschijnen dan temidden van de haarden, die uit epitheloïde cellen bestaan, kazige necrosen en het histologische beeld herinnert sterk aan tuberculose. Dit gebeurt vooral wanneer de haarden van de epitheloïde cellen van een bindweefselkapsel voorzien zijn, waarin men weer op tuberkels gelijkende ronde hoopjes van epitheloïde cellen vindt.

Volgens Pagel zijn boven beschreven haardjes in het collage-
ne bindweefsel voor de allergische reacties in het vroege stadium kenmerkend, terwijl de haarden van epitheloïde cellen dit zouden zijn in het latere stadium.

Putkonen meent dan ook met een allergische reactie te doen te hebben.

Silzbach en Ehrlich geven de volgende histopathologische beschrijving van de Kveim-test.

Een positieve reactie wordt gekenmerkt door het vormen van tuberculoïde granulatie-weefsel, gelijkend op dat, zoals voorkomt bij de ziekte van Besnier-Boeck.

De tuberkels zijn namelijk samengesteld uit epitheloïde cellen met zo nu en dan een reuscel van Langhans. Het granuloma is gewoonlijk omgeven met lymphocyten; af en toe zijn polynucleaire leucocyten, eosinophile cellen, plasma-cellen en bindweefsel-cellen ook aanwezig. De omvang en het aantal van de tuberkels wisselt van patiënt tot patiënt en met de gebruikte weefsel-suspensie. Gewoonlijk was het aantal granuloma's talrijk en dicht bij elkaar gelegen, maar soms was maar een enkele verspreid te zien. Meestal werden de granulomata in de sub-papillaire laag van de huid ge-

vonden, maar zij kunnen zich tot in het subcutane vetweefsel uitspreiden. Voor het grootste deel liggen zij volgens Silzbach en Ehrlich dieper in het corium, dan in de huidknobbeltjes bij de ziekte van Besnier-Boeck. Af en toe zijn in het centrum van de tuberkels celloze gebieden aanwezig, opgevuld met amorphe of fibrillair acidofiel materiaal.

Deze gebieden zijn gewoonlijk gering in omvang, soms echter zijn zij tamelijk uitgebreid en lijken oppervlakkig gezien op verkazende necrosen.

Deze ontwikkeling begint een week na de i.c. injectie en kan in tijd van twee weken voltooid zijn. Weken en maanden kan dit beeld blijven bestaan.

In een papel, 18 maanden na de i.c. suspensie-injectie verwijderd, zagen zij „hyalinosis” optreden, zoals soms gezien wordt bij de laesies veroorzaakt door de ziekte van Besnier-Boeck.

Ook Rogers en Haserick deden uitgebreide histologische onderzoeken van de positieve Kveim-testen.

Wanneer men een voldoende werkzame sarcoïde lymphklier-suspensie heeft zijn er twee factoren volgens hen welke het histologische beeld van de geëxcideerde Kveim-test bepalen.

1) Het reagerend vermogen van de patiënt op de prikkel van het antigeen.

2) De duur van de reactie alvorens zij verwijderd wordt.

De eerste factor kan door vergelijkend onderzoek worden bepaald van positieve reacties van dezelfde duur. Bij voorbeeld, bij zes weken wisselt de reactie van een paar tuberkels tot infiltraten, welke de gehele breedte van de huid innemen. In de minder uitgebreide reacties waren niet veel lymphocyten aanwezig en de haardjes van epitheloïde cellen waren gelijk aan die, welke men ziet bij de ziekte van Besnier-Boeck. In sommige van de meest uitgebreide reacties werd een kleine centrale haard van necrose gezien, welke een overwegend infiltraat van acute ontstekingscellen vertoont. Hieromheen was een zone van epitheloïde cellen en lymphocyten, waarin niet gemakkelijk tuberkels werden herkend. Verder naar de periferie was de reactie minder krachtig en epitheloïd-cellen-tuberkels met een minimale lymphocyten-infiltratie waren aanwezig, gelijkend op de tuberkels, zoals die voorkomen bij de ziekte van Besnier-Boeck.

Deze waarnemingen betekenen volgens hen, dat patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck verschillen in hun gevoeligheid t.o.v. het antigene agens van de suspensie. De minder gevoelige personen reageren op de prikkel op een betrekkelijk rustige manier, zoals te zien is door het voorkomen van enkele epitheloïdcellige tuberkels. De zeer gevoelige patiënten reageren uitbundiger en terplaatse van de grootste hoeveelheid antigeen is een complete necrose van het weefsel en een acute ontstekings-reactie aanwezig. Hieromheen lijkt de reactie meer op die, welke aanwezig is bij minder gevoelige patiënten. Zij wijzen er uitdrukkelijk op, geen ulcera gezien te hebben. Zij opperen de mogelijkheid, dat de uitgebreidheid van de reactie gebruikt kan worden als een graad-

meter om de ernst of de virulentie van de ziekte te kunnen bepalen. Zij wijzen erop dat de follow up in hun studie niet lang genoeg is geweest om deze gedachte te kunnen bevestigen.

Uit hun waarnemingen bij positieve reacties van Kveim kunnen Rogers en Haserick het volgende verloop vaststellen:

Na de initiële reactie op de injectie zien zij de eerste kenmerkende verandering verschijnen in de vorm van een degeneratie van het collageen (lichte basophile kleuring) rond de vaten. Heeft de patiënt een grote gevoeligheid voor het antigeen, dan veroorzaakt dit ter plaatse van de grootste concentratie een kleine haard van necrose.

Dit schijnt echter een uitzondering te zijn. Tegelijkertijd met deze plaatselijke paravasculaire degeneratie zwermen histiocyten naar de haard uit.

Deze komen waarschijnlijk vooral uit de bloedvaten en minder uit het omgevende weefsel. Hierop volgt een periode waarin lymphocyten en polynucleaire cellen uit de vaten afkomstig verschijnen welke later de haarden van perivasculaire parenchymdegeneratie infiltreren. Reuscellen beginnen in deze haarden van degeneratie te ontstaan. Later verdwijnen de lymphocyten en polynucleaire cellen met het te voorschijn komen van de eerste tuberkels. Deze veranderingen hebben de eerste twee weken plaats, en in de derde week wordt de tuberculoïde structuur duidelijk. Wanneer deze „actieve proliferatieve” phase teneinde loopt, worden de epithe-loïdcellige tuberkels „naakter”. Het proces ontwikkelt zich niet gelijktijdig. Op een snede zagen zij tuberkels van verschillende rijpheid. Zij kregen de indruk, dat de centraal gelegen tuberkels groter zijn en langer in een proliferatieve phase blijven, dan die in de periferie van de reactie. Het schijnt dat bij de Kveim-test die in ontwikkeling is evenals bij andere tuberculoïde reacties (b.v. lupus vulgaris) de aanwezigheid van lymphocyten om de tuberkels op een actieve phase wijst.

Wanneer dit zo is, dan zou de rijpe „naakte” tuberkel in de vol ontwikkelde reactie van Kveim op een eindstadium in de ontwikkeling van de granulomateuze reactie wijzen en een teken zijn dat de activiteit van deze tuberkel verdwenen is.

2. Bij controle-patiënten.

Putkonen verrichtte histologisch onderzoek bij enkele positief verlopende Kveim-testen bij enkele patiënten, lijdende aan tuberculose en alopecia atrophicans.

Hij neemt waar, dat sommige suspensies macroscopisch gelijkvormige reacties verwekten als bij de patiënten, lijdende aan de ziekte van Besnier-Boeck, zoals boven beschreven zijn.

§ 5 CRITERIA VOOR EEN POSITIEVE KVEIM-TEST.

Kveim beschrijft, zoals boven eveneens vermeld is, een later optredende reactie (een tot vier weken) na de i.c. injectie, een

blauw-rood papeltje dat bij microscopisch onderzoek ook een sarcoïde structuur heeft. Het papeltje kan maanden blijven bestaan, doch verdwijnt spontaan.

Ook hij meende, gezien het negatief verloop bij de controle-testen, met een kenmerkende reactie te doen te hebben, zonder verdere eisen te formuleren voor een positief verloop van de test.

Putkonen neemt controle-proeven bij lijders aan andere aandoeningen. De hierbij eventueel laat optredende (weken) reactie vertoont een doorsnede, die meestal onder de 5 mm. bleef. Als criterium van een positieve reactie van de Kveim-test eist hij een doorsnede van 5 mm. of meer met het optreden van de verkleuring of eventuele necrose van de papel.

Ter vervollediging van het onderzoek excideerde hij de papels voor histologisch onderzoek. Hij zag de bovengenoemde veranderingen en wijst op het nut van dit microscopisch onderzoek. Macroscopisch positieve Kveim-testen bleken soms geen sarcoïde structuur te hebben. Hij wijst er daarom op dat het nalaten van histologisch onderzoek een bron voor fouten kan zijn.

Danbolt eist geen histologisch onderzoek van de reactie-papel. Hij noemt de test positief, wanneer de i.c. injectie een papel verwekt, welke na een maand duidelijk zichtbaar is en een of meerdere maanden blijft bestaan.

Silzbach en Ehrlich geven geen afmeting van de macroscopische reactie als criterium voor een positieve reactie, maar eisen histologisch onderzoek. Evenzo zijn de criteria van Rogers en Hase-rick. Een sarcoïde structuur moet aanwezig zijn om de reactie van Kveim positief te kunnen noemen, 6 weken na de i.c. injectie van de weefsel-suspensie.

§ 6 WELKE GEGEVENS VINDT MEN IN DE LITERATUUR OVER DE RESULTATEN VAN DE KVEIM-TEST?

a. Bij gezonde personen. (Zie tabel 11.)

Williams en Nickerson zagen bij vier personen geen reactie optreden.

Putkonen verrichtte bij 17 personen de test met negatief resultaat.

Leider zag bij twee personen een negatief beloop.

Danbolt bij 25 en Beerman bij 3.

Positieve reacties bij normale personen werden niet vermeld.

b. Bij patiënten lijdende aan tuberculose.

Putkonen zag bij 14 patiënten die aan de een of andere vorm van tuberculose leden, eenmaal een positieve Kveim-test.

Lomholt zag bij een patiënt met lupus vulgaris de test positief worden, bij een controle van de patiënten van Putkonen.

Danbolt zag bij twee lijders aan actieve longtuberculose een posi-

TABEL 11 Kveim-testen in de literatuur.

AUTEURS	bij patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck.				bij controle-patiënten				bij patiënten verdacht van de ziekte van Besnier-Boeck.				bij normale personen		
	Aantal	Pos.	Neg.	% +	Aantal	Pos.	Neg.	% +	Aantal	Pos.	Neg.	% +	Aantal	Pos.	Neg.
Williams en Nickerson	4	4	0	100	4	0	0								
Kveim	13	12	1	92	?	0									
Putkonen	42	33	9	79	65	2	63	3							
Danbolt en Nilssen	36	34	2	94	64	0	64								
Nelson	15a	11	4	73											
	9b	0	9	0											
Leider	4	1	3	25	2	0	2						2	0	2
Danbolt	46	41	5	87	51	4	47	7,8	65	24	41	37	25	0	25
Silzbach en Ehrlich	58	50	8	86	54	2	52	4							
									33c	28	5	85			
									24d	12	12	50			
									23e	1	22	4			
Rogers en Haserick	51a	49	2	96	42	0	42								
	6b	0	6	0											
Beerman	18	3	15		18	7	11f	39					3	0	3
					4	0	4g								
					1	0	1h								

a) Actieve vorm van de ziekte van Besnier-Boeck.

b) In-actieve vorm van de ziekte van Besnier-Boeck.

c) Sterk verdacht voor de ziekte van Besnier-Boeck.

e) Weinig verdacht voor de ziekte van Besnier-Boeck.

f) Patiënten met tuberculose.

g) Patiënten met lues.

tieve Kveim-test. Hij vermeldt niet bij hoeveel patiënten de test werd verricht.

Silzbach en Ehrlich zagen bij 16 patiënten die aan actieve longtuberculose leden, eenmaal een positieve test.

Beerman zag bij 18 patiënten met actieve longtuberculose 7 x een positieve test.

Rogers en Haserick vonden bij 12 patiënten, die aan tuberculose zouden lijden, 2 x een positieve Kveim-test. Deze twee patiënten bleken bij verder onderzoek inderdaad aan de ziekte van Besnier-Boeck te lijden en werden als zodanig uitgeboekt.

Korte samenvatting:

Enkele onderzoekers namen bij lijdens aan tuberculose positief verlopende Kveim-testen waar. Vooral Beerman zag dit frequent gebeuren (7 x bij 18 patiënten).

c. Bij patiënten lijdende aan enige andere aandoeningen.

Zonder een aantal te noemen vermeldt Kveim bij lues- en lupus-patiënten negatieve testen.

Putkonen nam bij 33 patiënten, die aan verschillende zeer uiteenlopende huidaandoeningen leden één positieve reactie waar. Deze leed aan Alopecia atrophicans.

Danbolt en Nilssen namen bij 64 controle-patiënten geen positieve reactie waar. Danbolt geeft nog een verzamel-statistiek tot 1951, waarin 49 controle-patiënten zijn opgenomen. Een patiënt met acne rosacea, een met angioma hadden een positieve Kveim-test. Een patiënt met een dubieuze aandoening (ziekte van Besnier-Boeck?) had een positieve test.

Silzbach en Ehrlich namen bij 38 patiënten eenmaal een positieve test waar. Deze leden aan longfibrose. De overige controle-patiënten, met negatieve Kveim-tests, leden aan inoperabel carcinoma, hartzwakte met stuwings, enteritis regionalis, hyperthyreoïdie.

Rogers en Haserick namen bij 32 patiënten geen positieve test waar. Deze leden aan berylliosis, lymphoblastoma enz.

Beerman nam bij vier patiënten met lues latens en een met Hodgkin negatieve reacties waar.

d. Bij patiënten lijdende aan de ziekte van Besnier-Boeck.

De criteria welke de verschillende onderzoekers gebruiken voor de activiteit van het proces worden niet altijd aangegeven. Volgens mededeling van Appel, zag Nickerson zowel bij de actieve als bij de in-actieve vorm van de ziekte van Besnier-Boeck positieve reacties optreden. Silzbach en Ehrlich merken op, dat de patiënten, die aan een actieve vorm van de ziekte leden en een negatieve test vertoonden in klinisch, rontgenologisch, histologisch

opzicht en laboratoriumonderzoek, niet van de andere patiënten met een actieve vorm van de ziekte met een positieve Kveim-test verschillen.

Putkonen geeft aan bij het bespreken van de resultaten dat het verdwijnen van epitheloïde cellen en het optreden van fibrose een teken is van verlies van activiteit van het proces.

Bij 42 patiënten nam hij 33 x een positieve Kveim-test waar. De reactie was positief bij alle patiënten met floride huidafwijkingen. Wanneer deze genazen werd de reactie negatief.

Silzbach en Ehrlich kunnen dit niet bevestigen.

Zolang slechts in lymphklieren of tonsillen de karakteristieke epitheloïdcellige granulomen voorkomen, verloopt volgens Putkonen de test positief. Een samenhang met de tuberculine-gevoeligheid, bloedbeeld of Bs. der erythrocyten werd niet gezien.

Slechts drie van zijn patiënten hadden geen huidafwijkingen, terwijl bijna steeds op andere plaatsen in het lichaam nog veranderingen voorkwamen.

Williams en Nickerson zagen hun reactie positief verlopen bij vier patiënten. Kveim zag bij 12 van de 13 patiënten de laat optredende reactie. Over de activiteit van de aandoening bij deze patiënten wordt geen afzonderlijke melding gedaan.

Danbolt en Nilssen beschrijven bij 34 van de 36 patiënten een positief verlopende Kveim-test, zonder de activiteit van het proces te vermelden. Danbolt beschrijft de patiënt van C. Boeck, welke op hoge leeftijd met een volkomen uitgeblust proces toch nog een positieve Kveim-test vertoonde. In een reeks van 46 patiënten zag hij 41 positief verlopende reacties. De patiënten met positieve reacties vertoonden allen huidrupties, naast andere localisaties van de ziekte. In 70,5 % hiervan waren de longen en hilus-klieren eveneens aangedaan. Een eventueel aanwezig verband met de tuberculine-reactie en het verloop van de Kveim-test wordt niet gegeven. Hij zag de reactie negatief worden bij een patiënt waarvan de huidafwijking in regressie was. In een groep van 65 patiënten met „uncharacteristic pulmonary alterations”, verliep de test 24 x positief.

Nelson nam bij 15 patiënten met een actieve vorm van de ziekte van Besnier-Boeck 11 x een positieve test waar, terwijl bij 9 patiënten met een inactieve vorm de test negatief verliep.

Bij twee patiënten welke genazen zag hij de test van positief negatief worden. Hij besluit hieruit dat de Kveim-test slechts een beperkte diagnostische waarde bezit en vooral een graadmeter is voor wat betreft de activiteit van de aandoening. Nelson zelf gebruikt hiervoor het woord „prognose”.

Leider zag bij vier patiënten 1 x een positieve reactie optreden, welke patiënt tevens huidafwijkingen had. Bij de 3 andere was hij niet zeker van de diagnose. Over de mate van activiteit van het proces worden geen mededelingen gedaan.

Silzbach en Ehrlich namen waar, dat 7 van de patiënten welke een positieve Kveim-test hadden, negatief gingen reageren toen de ziekte in-actief werd. Daarentegen bleven 4 patiënten positief rea-

geren, ondanks het feit dat de ziekte scheen af te nemen.

50 Patiënten van de 58 vertoonden een positieve Kveim-test.

Rogers en Haserick zagen 49 x een positieve Kveim-test bij 51 patiënten met een actieve vorm van de ziekte van Besnier-Boeck. Bij 4 patiënten werd in een in-actieve phase van de ziekte de reactie herhaald en verliep negatief.

Bij 6 patiënten met een in-actieve vorm van de ziekte van Besnier-Boeck verliep de Kveim-test negatief.

Beerman zag bij 18 patiënten 3 x een positieve Kveim-test. De activiteit van het proces wordt niet medegedeeld.

Korte samenvatting:

Zonder de activiteit van het proces te vermelden, namen Williams en Nickerson in 100 %, Kveim in 92 %, Putkonen in 79 %, Leider in 25 %, Silzbach en Ehrlich in 85 % en Beerman in 17 % positieve Kveim-testen bij patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck waar (Zie tabel 11).

Bij actieve gevallen van de ziekte van Besnier-Boeck nam Putkonen in 100 % positieve testen waar. Deze patiënten hadden floride huidafwijkingen welke de graadmeter voor de mate van de activiteit was.

Nelson vermeldt in 73 %, Rogers en Haserick in 96 % positieve reacties.

Bij in-actieve vormen van de ziekte van Besnier-Boeck vermelden Nelson, Rogers en Haserick geen positieve reacties.

Putkonen zag geen verband tussen de gevoeligheid voor tuberculine en het voorkomen van positieve Kveim-reacties bij zijn patiënten.

Danbolt en Nelson namen waar dat de meeste patiënten ongevoelig waren voor tuberculine.

In de groep patiënten, waarbij de diagnose van de ziekte van Besnier-Boeck zeker was, namen Silzbach en Ehrlich geen verband waar. In de groep tuberculine-ongevoelige patiënten, welke verdacht werden voor het aanwezig zijn van de ziekte van Besnier-Boeck, waren in 56 % positieve Kveim-testen aanwezig, bij tuberculine-gevoelige patiënten in deze groep in 42 %.

Wat betreft het verband tussen het voorkomen van positieve Kveim-testen en het aanwezig zijn van huidafwijkingen vermeldt Putkonen dat dit in 93 % voorkwam. Bij de patiënten van Danbolt was dit in 100 % het geval. Leider in 25 %.

§ 7 HYPOTHESEN TER VERKLARING VAN DE KVEIM-TEST.

Kveim zelf veronderstelde met een allergische reactie te doen te hebben, welke kenmerkend zou zijn voor de ziekte van Besnier-Boeck. Met Kveim zou men zich kunnen voorstellen, dat de reactie ook nog zou kunnen berusten op een eigenschap van de Besnier-Boeck-patiënt om op verschillende prikkels te reageren met vorming van sarcoïde laesies (isomorf Reizeffect). Daar Frei-antigeen

geen reactie gaf, sluit Kveim het „isomorf Reizeffect” als oorzaak uit.

Danbolt oppert dezelfde mogelijkheden ter verklaring van de Kveim-test. De allergische hypothese ter verklaring van de reactie, acht hij het meest waarschijnlijk. Er tegen pleit de langzame ontwikkeling van de papel en zijn histologische structuur. Hij neemt de suggestie van Sulzberger over, n.l. dat de i.c. ingebrachte weefsel-suspensie, alvorens een allergische reactie te verwekken eerst een huid-sensibilisatie teweeg moet brengen. Dit zou dan de oorzaak zijn van het trage verloop van de reactie.

Hij meent dat het „isomorf Reizeffect” hier niet aanwezig is daar alleen bepaalde weefsel-suspensies, afkomstig van Besnier-Boeck-patiënten, de huid-reactie verwekken.

Danbolt herhaalde n.l. de proeven van Nelson, waarbij met een weefsel-suspensie uit normaal milt-weefsel bereid ook positieve Kveim-testen werden verkregen. Danbolt kon dit niet bevestigen. Bovendien zijn met leucaemische lymphklieren en tuberculeus ontstoken klieren slechts sporadisch positieve Kveim-testen verkregen.

Ander weefsel-suspensie of huid-irritantia schijnen dit niet te kunnen veroorzaken.

Ook Putkonen hangt de allergische theorie aan. Hij doet dit op grond van het feit, dat Pagel dezelfde histologische veranderingen bij allergische reacties beschrijft als Putkonen bij de positieve Kveim-test waarnam.

Aanvankelijk het zwellen en verkleuren van de collagene vezels en later het optreden van epitheloïdcellige infiltraten.

Nelson geeft in zijn artikelen uitgebreide beschouwingen over de aard van de Kveim-reactie. Wanneer deze huidtest een allergisch verschijnsel is, dan kan de latente periode aannemelijk zijn. Het is dan een vertraagd antwoord „in situ”, veroorzaakt door de reactie van gevoelig geworden weefsel met een depot van antigeen. Opvallend is het te hoge gamma-globuline-gehalte van de serum-eiwitten bij vele patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck. Dit doet er aan denken dat het vormen van antilichamen bij deze ziekte gebeurt in antwoord op een tot nu toe niet bekend antigeen of antigenen. Misschien is de antigeen-antilichamen-reactie bij deze aandoening nauw betrokken en geldt dit ook voor de Kveim-reactie.

Blijft het feit, dat zulke patiënten volgens Nelson op dezelfde wijze kunnen reageren op de intracutane injectie van normaal menselijk milt-weefsel, leucaemische lymphklieren en tuberculeus ontstoken lymphomen, hetgeen niet waarschijnlijk maakt dat het Kveim-antigeen, afkomstig van een Besnier-Boeck-patiënt, een zekere onafscheidelijke specificiteit zou bezitten. Integendeel, zulke feiten wijzen erop dat de Kveim-reactie misschien zou kunnen worden verklaard als een ongebruikelijke vorm van isomorphe reactie bij de ziekte van Besnier-Boeck. Dit zou dan een reactie zijn op een of meer chemische complexen (haptenen?), welke in bepaald menselijk weefsel en andere bronnen aanwezig kunnen zijn.

Daarnaast kan uit verschillende micro-organismen een lipoid-bevatend extract worden bereid, welk terplaatse van de injectie een sarcoïde structuur kan verwekken.

Niet gepubliceerde onderzoeken van Nelson naar de aard van de chemische samenstelling van de werkzame factor in de milt, wezen in de richting van lipoiden-bevattende bestanddelen.

Bij andere ziekten met bekende aetiologie kunnen dezelfde histologische veranderingen optreden als bij de ziekte van Besnier-Boeck (lepra, lues, tuberculose, Kala-azar, ziekte van Bang, chronische beryllium-vergiftiging).

Dit suggereert volgens Nelson, dat het syndroom dat wij herkennen als de ziekte van Besnier-Boeck, een gegeneraliseerde weefselreactie zou kunnen zijn op een aantal verwante of niet-verwante stoffen. Dit zou dan een uiting zijn van een ongebruikelijk antwoord van het reticulo-endotheliale systeem op verschillende antigenen prikkels. Het antigeen zou niet steeds exogeen behoeven te zijn, het kan ook endogeen zijn. Volgens Nelson zou het exogene antigeen bij de patiënt veranderingen kunnen veroorzaken welke laatste op zichzelf weer als antigenen kunnen dienen. Deze noemt hij dan endogeen. Dit laatste kan dan tevens een verklaring zijn, waarom sommige patiënten, zowel met normaal miltweefsel als met het Kveim-antigeen van sarcoïde oorsprong dezelfde reactie kunnen geven.

Bij de Kveim-reactie is het verplicht een grof deeltje mee intracutaan in te spuiten. Wanneer dit nu terplaatse wordt afgebroken en langzaam zijn antigeen loslaat, ontwikkelt zich ook slecht traag terplaatse een reactie. Dit is dan een antigeen-antilichamen-reactie.

Nelson meent met een gelocaliseerde antigeen-antilichaam-reactie te doen te hebben als verklaring voor de Kveim-test.

Wylie, Rogers en Haserick menen in de Kveim-test een voortzetting te zien van het ziekteproces, maar nu kunstmatig teweeggebracht door de plaatselijke injectie van het ziektewekkend agens, afkomstig van ziek weefsel van een patiënt lijdende aan een actieve vorm van de ziekte van Besnier-Boeck.

Bij de ontvanger, een lijder aan een actieve vorm van de ziekte van Besnier-Boeck zet zich het proces terplaatse voort. De gastheer wil het schadelijke agens terplaatse houden en vormt een sarcoïde structuur via een stadium van algehele ontsteking. Waarschijnlijk is het plaatselijk proces een antigeen-antilichaam-reactie met uiteindelijk resultaat: epitheloïd-cellige tuberkelvorming.

Zij proberen dit te bewijzen door antigeen in het zieke weefsel aan te tonen, of door antigeen en anti-lichaam samen te brengen.

Deze laatste mogelijkheid kan verwezenlijkt worden, door actief antigeen met gamma-globuline van een lijder aan de actieve vorm van de ziekte te mengen en in de huid van een gezonde proefpersoon in te spuiten. Er ontstond een behoorlijk erythema. Daarna ontwikkelde zich een papel, welke na vier weken hardjes van epitheloïd-cellen-structuur liet zien, omgeven door lymphocyten. Dit is een voorlopige mededeling van Rogers en Haserick, maar naar

zij menen niettemin een zeer belangrijke. Bij bevestiging hiervan zou dit volgens hen een essentiële aanwinst zijn in de pathogenese van de ziekte van Besnier-Boeck en tevens zou het antigeen of antigenen via empirische weg kunnen worden achterhaald.

Rogers en Haserick namen waar, dat 5 mgr. hydrocortisone met het Kveim-antigeen ingespoten bij patiënten met een actieve vorm van de ziekte van Besnier-Boeck een vorming van epithe-loïde cellen voorkwam.

Na zes weken gaven deze injectieplaatsen alleen een degeneratie van de huid. Deze waren indentiek met de controle-plaatsen, waar alleen hydrocortisone was ingespoten. Er was geen enkele cel-reactie aanwezig. De Kveim-test, die als controle dienst deed, liet het gewone beeld zien van de positieve test.

Na een injectie van 5 mgr. hydrocortisone in een 10 dagen oude Kveim-reactie, was geen cel-reactie na 35 dagen aanwezig.

Een 6 weken oude positieve test werd met 5 mgr. hydrocortisone ingespoten. Twee weken hierna had een aanzienlijke, doch geen algeheel verdwijnen van de epitheloïde structuur plaats gevonden, zoals bleek bij vergelijking met de controle-test.

Het schijnt alsof hydrocortisone terplaatse doeltreffend de prikkel welke verantwoordelijk is voor de granulomavorming blokkeert en alsof de ontwikkelde en in ontwikkeling zijnde granuloma's oplossen.

Zij suggereren door deze waarnemingen, dat het hydrocortison de antigen-antilichaam-reactie terplaatse zou blokkeren. De Kveim-test zou op grond hiervan een allergische reactie zijn.

Korte samenvatting:

Kveim meende als verklaring voor het mechanisme van de test een allergische oorzaak te moeten veronderstellen en wijst het „isomorphe Reizeffect” af. Dit geschiedde, daar het Frei-antigen bij zijn patiënten negatieve reacties gaf.

Danbolt hecht aan de positieve Kveim-testen, die optraden bij gebruik van weefsel-suspensies, bereid uit milt, leucaemische en tuberculeuze klieren, geen waarde. Met miltweefsel zag hij geen reacties, en de andere zijn sporadische waarnemingen. Nelson wil aan deze echter wel waarde toekennen, maar houdt niettemin vast aan de allergische theorie. Hij voert dan in het begrip van endogen antigen, dat zou ontstaan als reactie op het ingespoten materiaal (exogeen).

Wij menen ons te moeten aansluiten bij de veronderstelling van Wylie, Rogers en Haserick, dat bij de Kveim-test het agens, in de weefsel-suspensie aanwezig, via een antigeen-antilichaam-reactie kan worden gebonden met als uiting hiervan een sarcoïde structuur.

Wanneer men echter de Kveim-test in zou willen passen in de bekende allergische reacties, zoals de directe vorm van allergie, de vertraagde reactie-vorm of in het Schwartzman phenomeen, dan lukt dit niet.

§ 8 EIGEN ONDERZOEK.

a. *Bereidingswijze van de weefsel-suspensie voor de Kveim-test.*

Uit de literatuur bleek ons dat lymphklieren het langst kunnen worden bewaard, zonder hun werkzaamheid te verliezen en sterkere reacties te geven dan tonsillen en huidknobbeltjes. Tonsillen geven heftige banale vroege reacties en miltweefsel wordt hierdoor na enige maanden bewaren ongeschikt.

Bovendien is lymphklier-weefsel ook het materiaal waarvan men geneigd is te veronderstellen, dat het gemakkelijk te verkrijgen is. De ervaring heeft ons helaas geleerd dat dit lang niet altijd eenvoudig is. Er werden drie weefsel-suspensies bereid afkomstig van drie patiënten.

De volgende bereidingswijze werd door ons toegepast:

Lymphomen van een patiënt, welke verdacht wordt van een actieve vorm van de ziekte van Besnier-Boeck of van een reeds bekende patiënt, worden verwijderd. Opnieuw of voor het eerst wordt histologisch onderzoek verricht en caviaproeven ingezet. In afwachting van de uitslag worden de klieren bij een temperatuur van — 20 graden C. aseptisch bewaard.

Blijkt de caviaproef negatief te zijn en toont het histologisch onderzoek epitheloïde-cellige granuloma zonder verkazing, dan worden de klieren op de volgende wijze verder bewerkt.

Zij worden van hun omgevende weefsel ontdaan en gewogen.

In een steriele mortier onder aseptische omstandigheden worden zij fijn geknipt en gesneden, waarna gemalen. Thans wordt een physiologische zoutoplossing toegevoegd, evenredig aan het gewicht, in een verhouding 1:10. De suspensie wordt dan over steriele gaasjes gefiltreerd, om grotere weefseldelen tegen te houden. Het mengsel wordt dan gedurende een uur verhit in een waterbad op 60 graden C. Dit wordt voor een uur de volgende dag herhaald. Steriliteitsproeven op acrobe en anaerobe bacteriën worden verricht, met behulp van bloedbouillon, bloedagar en thioglyconaat voedingsbodems bij 37 graden C. Na een week werden de cultures afgelezen.

Wanneer de suspensie steriel is, wordt phénol 0,25 % in eind-concentratie als conservans toegevoegd.

b. *Uitvoering van de reactie.*

0,1 cc. van de weefsel-suspensie wordt met behulp van een gecalibreerde Mantoux-spuit door een dunne naald (nr. 18) intracutaan ingespoten. Wij waakten er zorgvuldig voor, geen spuiten of naalden te gebruiken waarmede van te voren tuberculine-reacties verricht waren, tenzij na zeer zorgvuldig reinigen. Tuberculine blijft na koken nog actief en dit kan een bron zijn voor het optreden van storende reacties, in de vroege phase van de Kveim-test.

Zoveel mogelijk werden op uniforme plaatsen i.c. injecties gegeven.

Bij mannen de volaire zijde van de onderarm. De vrouwelijke patiënten hadden hiertegen begrijpelijke bezwaren, daar zij littekenvorming vreesden. De bovenarm leverde geen moeilijkheden op. Dit had voor ons nog het voordeel, dat littekens van pokpuisten als bakens dienst deden.

Onze criteria voor een positieve Kveim-test.

Zes weken na de i.c. weefsel-injectie wordt de reactie beoordeeld. Wanneer een huidverkleuring of een palpabel infiltraat aanwezig is, wordt hiervan een stan's genomen.

Blijken de coupes hiervan bij histologisch onderzoek een epithe-loïdcellig granulatie-weefsel te bevatten, dan wordt de Kveim-test positief genoemd. Geringe necrose en reuscellen van Langhans mogen aanwezig zijn.

c. Resultaten van de Kveim-test. (Zie tabel 12.)

A. Bij normale personen.

Bij 10 normale personen werd ter controle van elk der drie suspensies een Kveim-test verricht, teneinde specifieke reacties uit te sluiten. 30 x verliepen deze negatief.

B. Bij 34 patiënten lijdende aan actieve of in-actieve longtuberculose, werden met elk der suspensies, Kveim-testen verricht. Op een totaal aantal van 68, werd geen positieve test waargenomen.

C. Bij patiënten met een actieve vorm van de ziekte van Besnier-Boeck.

Activiteit.

Bij de indeling naar de wel of niet actieve vorm van de ziekte van Besnier-Boeck, hebben wij de volgende criteria voor activiteit gebruikt.

- 1) Koorts tijdens het beloop waarvoor geen andere oorzaak gevonden wordt. Toeneming van de klachten, gepaard gaande met het achteruitgaan van de algemene toestand van de patiënt.
- 2) De phase welke volgt na het optreden van een erythema nodosum.
- 3) Progressie van de verschijnselen bij bestaande afwijkingen.
 - a. Toeneming van het aantal en grootte van de lymphomen zowel bij fysisch, als Röntgenologisch onderzoek.
 - b. Het stadium van het optreden van de diffuse longafwijkingen, toeneming en/of veranderen van aspect van bekende reeds aanwezige schaduwtekeningen.
- 4) Nieuwe localisaties van de ziekte in andere organen zoals bij huid, lever en miltvergroting, iridocyclitis, slijmvlies-afwijkingen, spieren, endocriene organen enz.

Bij het optreden van localisaties in endocrine klieren kunnen uitvalverschijnselen hiervan optreden.

Op het electrocardiogram kunnen afwijkingen voorkomen, wanneer de hartspeer in het proces betrokken wordt.

Wij menen te moeten opmerken, dat de Bs. niet parallel loopt met de activiteit van het proces (zie ten Have).

TABEL 12.

De Kveim-test uitgevoerd met lymfklier-suspensies van Besnier-Boeck-patienten.				
	Aantal personen.	Aantal reacties.	+	—
Normale personen.	10	30	0	30
Patienten met: longtuberculose.	34	68	0	68
actieve vorm van de ziekte van Besnier-Boeck.	11	37	5	32
in-actieve vorm van de ziekte van Besnier-Boeck.	41	111	8	103

De Kveim-test uitgevoerd met een normale milt-weefsel-suspensie.				
	Aantal personen.	Aantal reacties.	+	—
Normale personen.	10	10	0	10
Patienten met: longtuberculose.	17	17	1	16
actieve vorm van de ziekte van Besnier-Boeck.	1	1	1	0
in-actieve vorm van de ziekte van Besnier-Boeck.	25	25	2	23

Het wel of niet gevoelig zijn voor tuberculine is geen criterium. Putkonen vond geen samenhang tussen het bloedbeeld en de activiteit van het proces.

Bij elf patiënten met een actieve vorm van de ziekte van Besnier-Boeck werd 37 x met drie weefsel-suspensies de Kveim-test verricht. Deze verliepen 5 x positief en 32 x negatief. De eis van histologisch onderzoek werd hier bevestigd. Wij zagen

4 x zeer fraaie bruin-verkleurde palpabele infiltraten, van 10 x 10 mm., welke echter bij histologisch onderzoek geen epitheloïd-cellen-infiltraten bevatten, maar slechts banale ontstekings-reacties.

d. Patiënten met in-actieve vorm van de ziekte van Besnier-Boeck.

De reactie werd verricht bij 41 patiënten. In totaal 111 reacties waarbij 8 x een positieve test werd gezien.

Ten onrechte op het macroscopisch beeld positief genoemde reacties werden ook hier door het histologisch onderzoek achterhaald (4 x).

De mededeling van Nelson, dat hij met een suspensie van normaal miltweefsel positieve Kveim-testen verkreeg, was voor ons aanleiding deze proeven op bescheiden schaal te herhalen.

De bereiding van de milt-suspensie was analoog aan die verkregen uit lymphklieren.

Bij 10 normale personen zagen wij geen reactie.

Op 17 testen bij patiënten met actieve longtuberculose vonden wij 1 x een positieve reactie.

Bij de enige patiënt lijdende aan een actieve vorm van de ziekte van Besnier-Boeck, waarbij deze test werd verricht verliep deze positief.

Bij 25 patiënten welke leden aan een in-actieve vorm van de ziekte van Besnier-Boeck waren 2 positief verlopende reacties.

De positieve reacties waren echter afkomstig van een milt-suspensie die al enkele maanden oud was.

Hiernaast zagen wij positief verlopende Kveim-testen, welke hier niet zijn vermeld en die werden verkregen met een weefsel-suspensie welke met zand was fijn gemalen. Met behulp van een nicol bleken de coupes echter vol te zitten met kristallen, waaromeen de epitheloïde cellen-structuren waren gerangschikt.

In de weefsel-suspensie zelf waren na centrifugeren deze kristallen eveneens aanwezig. Wij meenden dan ook dat door middel van centrifugeren deze kristallen niet te verwijderen zijn en de door Putkonen gevolgde manier van bereiden van de weefsel-suspensie geen navolging verdient.

Wat betreft de vroege reactie van de waargenomen positieve Kveim-testen kunnen wij vermelden dat voor zover deze optraden, zij beperkt bleven tot enige roodheid in de eerste 24 uur. Na 72 uur was deze steeds verdwenen. Terplaatse van de i.c. injectie resteerde hoogstens een zeer klein papeltje van een à twee mm. Evenzo verliepen de controle-reacties.

§ 9 DISCUSSIE.

Wanneer men de literatuur over de Kveim-test heeft doorgelezen, dan wordt het duidelijk van welk gewicht de keuze is van het materiaal waaruit men de weefsel-suspensie bereidt. Het blijkt dan dat tonsillen toxische reacties geven en om deze reden minder

geschikt zijn voor het uitvoeren van de reactie (Putkonen, Danbolt). Ook milt-weefsel dat enige maanden bewaard is, is om dezelfde reden ongeschikt (Danbolt). Van andere weefsels die gebruikt werden (huidknobbeltjes, lymphomen en positieve Kveim-testen) bleken de lymphklieren het beste te voldoen. Zij waren het langste houdbaar en gaven de meeste positieve reacties. Silzbach en Ehrlich hebben er op gewezen dat de lymphklieren afkomstig moeten zijn van een actieve vorm van de ziekte van Besnier-Boeck. In tegenstelling met de bevindingen van Kveim, nam Putkonen waar, dat het materiaal voor het bereiden van de weefsel-suspensie niet obligeert een sarcoïde structuur behoeft te vertonen. Het is echter goed denkbaar dat Putkonen in de coupes van het materiaal die hij doorzocht geen sarcoïde structuur vond, die echter in dat deel dat voor de suspensie-bereiding gebruikt werd, wel degelijk aanwezig was. Vooral nog lijkt ons de veiligste weg slechts materiaal te gebruiken waarin bij histologisch onderzoek de kenmerkende laesies zijn aangetoond.

Wanneer men van de lymphklieren de suspensie gaat bereiden is het zaak geen zand voor het fijnmalen te gebruiken zoals Putkonen deed. Men moet rekening houden met de door Epstein en Löfgren geopperde mogelijkheid, dat zand- en talk-injecties vooral bij Besnier-Boeck-patiënten aanleiding kunnen geven tot silica granulomen.

Refvem meende echter aangetoond te hebben dat deze granulomen bij Besnier-Boeck-patiënten niet frequenter voorkwamen dan bij normale personen. Hij haalt Gardner aan welke wees op de betekenis van de grootte van de kwartsdeeltjes voor het tot ontwikkeling komen van de granulomen.

Het spreekt vanzelf dat, alvorens een weefsel-suspensie in de kliniek gebruikt wordt, men deze op steriliteit toetst en de negatieve caviaproeven afwacht.

Bovendien moeten bij normale personen en lijders aan tuberculose een serie controle-testen worden verricht. Indien in de controle-groep de frequentie van positieve reacties hoog ligt, beschikt men niet over een goede suspensie.

Wanneer men de resultaten van de controles van Putkonen, Silzbach en Ehrlich vergelijkt met die van Beerman, dan kan men moeilijk aannemen dat de weefsel-suspensie van deze laatste wel een bruikbare is geweest (zie tabel 11).

Putkonen gaf als eerste de meest uitvoerige beschrijving van de Kveim-test (zie blz.). Hij beschrijft een vroege en een late fase van de Kveim-test.

Het is opvallend dat Williams en Nickerson uitsluitend een reactie beschrijven die na 36 uur haar grootste afmeting bereikt, terwijl Kveim deze pas na 1 tot meerdere weken te voorschijn ziet komen. Hun histologische beschrijvingen van de verkregen reactie-papels stemmen overeen.

Putkonen nam waar dat bij zeer actieve weefsel-suspensie de late vorm vroeg kon optreden, al na 4 dagen.

Het is dus wel mogelijk, dat Williams en Nickerson met een uitbundig actieve weefsel-suspensie gewerkt hebben.

Putkonen evenals Danbolt hechten aan de vroege reactie geen waarde. Zij verklaren deze als een reactie op de mechanische prikkel van de injectie.

Silzbach en Ehrlich hechten er wel terdege waarde aan. Wanneer deze vroege vorm optrad kwam er ook een laat positieve Kveim-test te voorschijn.

Alleen de uitgebreidheid van de positief verlopende testen kan een aanduiding zijn voor de activiteit van de gebruikte suspensie, eventueel het vroege optreden van huid-verkleuringen en het late optreden van necrose en zweer-vorming.

Een uitvoerige beschrijving van het histologische beeld van de positieve Kveim-test wordt op pag. gegeven. Wij menen de opmerking van Putkonen wanneer hij er op wijst dat de haarden van de necrose welke soms optreden niet behoren bij een sarcoïde structuur, te moeten onderstrepen.

In de beschrijving van de huidtest vermeldt Kveim bij een positieve reactie het optreden van een papeltje, een tot vier weken na de injectie. Bij histologisch onderzoek nam hij een sarcoïde structuur waar.

Hiernaast wordt gewezen (o.a. Danbolt, Putkonen) op de grote gelijkenis die deze papel heeft met de spontaan aanwezige huidknobbeltjes zoals bij de ziekte van Besnier-Boeck optreden.

Als criterium voor een positieve Kveim-test heeft men van beide bevindingen gebruik gemaakt.

Danbolt en Putkonen eisen een bepaalde diameter bij een verkleurd papeltje, daarentegen verlangen Silzbach en Ehrlich, Rogers en Haserick histologisch onderzoek.

Wij menen dat dit laatste criterium aangehouden dient te worden om ten onrechte positief verlopende reacties uit te kunnen sluiten. In ons eigen materiaal zagen wij viermaal fraaie bruin-verkleurde papels optreden die een positieve reactie suggereerden. Bij microscopisch onderzoek bleek echter een banaal ontstekingsproces aanwezig te zijn.

Wanneer men de Kveim-test na 6 weken macroscopisch inspecteert en maar weinig verkleuring van de huid ziet of infiltraat palpeert, verdient het aanbeveling na weken dit onderzoek te herhalen. Laat optredende positieve testen komen een enkele keer voor (o.a. Danbolt).

Bij de verklaring van het mechanisme van de Kveim-test worden vooral twee mogelijkheden geopperd n.l. een allergische reactie of het „isomorphe Reizeffect” (Kveim, Putkonen, Danbolt).

Nelson tracht beide hypothesen te combineren. Tegen de allergische hypothese zou pleiten de lange duur voor het tot stand komen van de reactie, het feit dat ook andere stoffen (normale milt, leucaemische klier en tuberculeuse klier) een positieve test kunnen geven en de sarcoïde structuur van de papel. Het blijkt echter dat de lange duur te verklaren is door het feit dat corpusculaire deeltjes in de weefsel-suspensie aanwezig moeten zijn, wil

men een positieve Kveim-test verkrijgen (Putkonen, Danbolt, Nelson). Verwijdert men deze deeltjes, door centrifugeren of filtreren, dan verliest de oorspronkelijke suspensie zijn werkzaamheid. De met de suspensie geïnjecteerde corpusculaire deeltjes worden terplaatse afgebroken, waarvoor enige tijd vereist is. Eerst daarna kan het lichaam op het vrijgekomen agens reageren. Deze reactie zou een allergische kunnen zijn. Immers Putkonen wijst erop dat Pagel bij allergische reacties histologische beelden beschrijft die overeenstemmen met hetgeen hijzelf zag bij de Kveim-test. Beiden beschrijven een phase van zwelling en verkleuring van collage-vezels met daarna het optreden van sarcoïde structuren.

De positieve Kveim-testen, verkregen met een weefsel-suspensie afkomstig van normaal miltweefsel, door Nelson beschreven, werden door Danbolt niet bevestigd en konden door Nelson niet gereproduceerd worden. De sporadisch positieve test met tuberculeus ontstoken halsklieren kan zijn verklaring vinden in de hierin aanwezige tuberkel-bacillen. Deze bacillen geven zoals bij de BCG-vaccinatie beschreven is, ook een sarcoïde structuur van de reactie-papel. Hieruit volgt tevens dat er weinig argumenten voor het „isomorfe Reizeffect” overblijven. De vele controle-proeven door Nelson verricht met andere weefsels en stoffen en welke negatieve reacties gaven, pleiten hier ook tegen. Nelson houdt vast aan de enkele positieve testen verkregen met milt en andere kliersuspensies en tracht dit te verklaren met behulp van een endogen antigeen dat zou ontstaan als reactie op de injectie van bovengenoemde weefsel-suspensies (het exogene antigeen).

De reactie op het endogene antigeen zou een allergische zijn. De meningen aangaande de chemische samenstelling van het actieve principe van de weefsel-suspensie zijn verdeeld.

Nelson put uit het door Putkonen waargenomen feit, dat de weefsel-suspensie tot op zekere hoogte thermostabiel is, een argument voor een lipoid of lipoid-koolhydraat structuur van dit principe.

Pogingen van Danbolt om met behulp van aether een werkzame substantie te verkrijgen mislukten echter.

Rogers en Haserick zagen dan dat de weefsel-suspensie toch actief bleef. Zij doen geen mededeling of met het aether-extract Kveim-testen werden verricht.

Uit de chemische bepalingen van de weefsel-suspensie bleek hun dat er een relatief laag lipoid-gehalte t.o.v. de eiwitten aanwezig was. Op zichzelf zegt dit nog niets.

Refvem meent dat de sarcoïde structuur welke bij een antigeen-antilichaam-reactie ontstaat veroorzaakt wordt door het hoge lipoid-gehalte van het antilichaam. Volgens hem behoeft dit niet in het antigeen voor te komen.

Rogers en Haserick deden een voorlopige mededeling waarbij zij de theorie van de antigeen-antilichaam-reactie voor de Kveim-test trachtten te bewijzen. Zij mengden een actieve weefsel-suspensie met gamma globuline van een Boeck-patiënt en injecteerden dit i.c.

bij een normale gezonde persoon. Na 4 weken was terplaatse een sarcoïde structuur aanwezig.

Wanneer men de percentages positieve Kveim-testen die door de verschillende onderzoekers vermeld worden bij de ziekte van Besnier-Boeck vergelijkt, dan blijken deze te variëren van 17 % (Beerman) — 100 % (Williams en Nickerson, zie Tabel 11). Daar Beerman echter bij patiënten met tuberculose in 39 % der gevallen positieve reacties vond, rijst ernstige twijfel of zijn weefsel-suspensie wel aan de vereiste criteria heeft voldaan. Laten wij de resultaten van Beerman hierom buiten beschouwing.

Eveneens een betrekkelijk laag percentage positieve reacties wordt vermeld door Leider (25 %). Leider zelf merkt hierover op dat de door Lomholt aan hem verstrekte weefsel-suspensie maar een weinig werkzame was.

De resultaten van de overige onderzoekers Williams en Nickerson, Kveim, Putkonen, Silzbach en Ehrlich, stemmen goed overeen. Zij vonden positieve testen in 79 % — 100 % der gevallen.

Nelson Rogers en Haserick vergeleken de resultaten verkregen bij de actieve vorm van de ziekte van Besnier-Boeck met die verkregen bij de in-actieve vorm.

Nelson verkreeg bij actieve gevallen in 73 %, Rogers en Haserick in 96 % positieve Kveim-testen.

Bij in-actieve vormen werd geen positieve Kveim-test gevonden. Zij vermelden enige gevallen waarbij een actieve fase en positieve Kveim-test overging in een in-actieve fase van de aandoening met negatieve Kveim-testen. Ook Putkonen heeft dit waargenomen.

In ons eigen onderzoek, waarbij wij de beschikking hadden over 3 verschillende uit lymphomen bereide weefsel-suspensies, vonden wij op een totaal van 52 patiënten, 13 x (24 %) positieve reacties (135 Kveim-testen werden verricht). Bij de 11 patiënten met een actieve vorm van de aandoening werd 5 x (45 %) een positieve Kveim-test verkregen, bij 41 met een in-actieve vorm 8 x (20 %). Onze controle-groep bestond uit 10 normale personen en 34 patiënten met longtuberculose. Wij verrichtten hierbij 98 x de Kveim-test. Geen enkele positieve test trad op.

Wij menen hieruit te mogen concluderen dat wij weinig actieve weefsel-suspensies hebben verkregen. Tevens blijkt uit ons onderzoek dat de frequentie van positief verlopende Kveim-testen bij actieve vormen (45 %) hoger ligt dan bij in-actieve vormen (20 %). De resultaten die wij verkregen met een normale milt-weefsel-suspensie bevestigen de waarnemingen van Danbolt en Nelson. Aanvankelijk leverde deze geen positieve Kveim-testen op, doch na 3 maanden bewaren kwamen zij te voorschijn.

Putkonen nam geen verband waar tussen het voorkomen van positieve tuberculine-reacties en positieve Kveim-testen. Danbolt en Nelson namen waar dat de meeste patiënten ongevoelig waren voor tuberculine.

Wij zagen geen verband tussen het voorkomen van tuberculine-gevoeligheid en het optreden van positieve Kveim-testen.

In ons materiaal hebben wij geen patiënt waarbij huidafwijkingen werden vastgesteld.

§ 10 CONCLUSIES.

1. Voor het verrichten van de Kveim-test is een actieve weefsel-suspensie vereist.
De drie suspensies waarover wij de beschikking hadden waren maar weinig actief.
2. Lymphklieren afkomstig van een niet behandelde patiënt lijdende aan een actieve vorm van de ziekte van Besnier-Boeck, zijn het meest geschikte substraat voor het bereiden van de weefsel-suspensie. De lymfomen moeten de kenmerkende epitheloid-cellige structuren vertonen.
3. Voor de beoordeling van de test is histologisch onderzoek vereist, zes weken na de i.c. injectie van de weefsel-suspensie.
4. Uit de literatuur blijkt dat positieve Kveim-testen in een hoog percentage vooral worden gevonden bij de actieve vormen van de ziekte van Besnier-Boeck.
5. Controleproeven dienen vooraf verricht te worden bij gezonde personen en vooral bij patiënten lijdende aan longtuberculose.
6. Aan een negatieve Kveim-test kan geen diagnostische waarde worden toegekend.
7. De Kveim-test is voor routinegebruik in de kliniek minder geschikt omdat:
 - a. de activiteit van de weefsel-suspensie niet gestandaardiseerd kan worden;
 - b. geschikt grondmateriaal moeilijk te verkrijgen is;
 - c. het noodzakelijk is, de weefsel-suspensie bij gezonden en zieken te testen, alvorens deze te gebruiken;
 - d. het histologisch onderzoek 6 weken na de i.c. injectie moet worden verricht.
- 8 Er zijn aanwijzingen dat de Kveim-test berust op allergie.

LITERATUUR

1. *B. Appel* Sarcoid. Arch. of Dermat. 1941:43:172.
2. *H. J. Barrie en A. Bogach* Natural history of sarcoid granuloma. Am. J. Path. 1953:29:451-469.
3. *N. Danbolt* Schweiz med. Wochenschrift. 1947:44:1149.
The lancet 1947:917.
4. *N. Danbolt en R. W. Nilssen* Investigations on the course of Kveim's reaction and its clinical value. Acta Dermato-venereologica. 1945:25:488.
5. *N. Danbolt* On Kveim's reaction in Boeck's sarcoid. Acta Medica Scandinavica. 1943:114:143.
On the skin test with Sarcoid Tissue-suspension. (Kveim's Reaktion) Acta Dermato-Venereologica. 1951:31:184.
Sarcoidosis. Modern Trends in Dermatology. Butterworth en Co., London 1954.
On the antigenic properties of tissue suspension prepared from Boeck's Sarcoid. Acta Dermato-Venereologica. 1948:28:151.
Progressive papule caused by injection of sarcoid tissue suspension (Kveim test) in a patient with Boeck's Sarcoid. Acta Dermato-Venereologica. 1951:31:447.
6. *W. Frei* Zur Praxis der lymphogranuloma inguinale reaction.
7. *H. Haxthausen* Klin. Wochenschrift. 1932:11:512.
Brit. J. Tuberculosis. 1948:42:7.
8. *A. Kveim* En ny og specifik kutan-reaksjon ved Boeck's sarcoid. En foreløsig meddelelse. Nordisch Medicin 1941:9:169.
9. *M. Leider* The Kveim test in Sarcoidosis. The J. of Investigative Dermatology. 1948:10:377.
10. *S. Lomholt* Beitrag zur Kveimreaction bei lymphogranulomatosa benigna. Acta Dermato-Venereologica. 1944:24:446.
11. *P. Möller* Case of Boeck's sarcoid with Kveim reactions persisting through nine years. Acta Dermato-venereologica. 1952:32:435.
12. *C. T. Nelson* Observations on the Kveim reaction in Sarcoidosis of the American Negro. The journal of Investigative Dermatology. 1948:10:15.
Kveim Reaktion in Sarcoidosis. Archives of Dermatology and syphilology. 1949:60:376.
13. *E. Epstein* Silica granuloma of the skin. Archiv. of Dermat. 1955:77:24.

14. W. Pagel Pathologie und Histologie der allergischen Erscheinungen. In Kallós, P. Fortschritte der Allergielehre. S. Karger, Basel. 1939, blz. 73-146.
15. T. Putkonen Ueber die Intrakutanreaction von Kveim bei lymphogranulomatosis Benigna. Acta Dermato-Venereologica. 1943, vol. 23. Suppl. 10.
16. L. W. Ray en
J. S. Slipman Tissue Changes produced by the action of the lipins of tubercel, grass and colon bacilli and of liver.
The Amer. Rev. of tuberculosis. 1923:7:88.
17. O. Refvem The Pathogenesis of Boeck's Disease.
Acta Medica Scandinavica. suppl. 294:1954.
18. A. R. Rich The Pathogenesis of tuberculosis.
C. C. Thomas, Springfield, Illinois, 1951.
19. F. J. Rogers en
J. R. Haserick Value of Kveim test as a diagnostic measure in Sarcoidosis. Cleveland Clinic Quarterly. 1954, blz. 79.

Sarcoidosis and the Kveim Reaktion. The journal of Investigative Dermatology. 1954:23:389.
20. P. R. Salien en
A. Joyner J. Exp. Med. 1938:68:853.
21. J. Schaumann en
G. Seeberg On cutaneous reactions in case of lymphogranulomatosis benigna. Acta Dermato-Venereologica. 1948:28:151.
22. H. Shay,
J. E. Berk,
M. Sones,
E. E. Aegerter,
J. K. Weston en
A. B. Adams The liver in sarcoidosis. Gastroenterology. 1951:19:441.
23. L. T. Silzbach en
J. C. Ehrlich The Nickerson-Kveim reaction in Sarcoidosis. The American Journal of Medicine. 1954:790.
24. R. Volk Zum Sarcoid Boeck. Arch. Derm. Syph. (Berl.). 1922:138:327:329.
25. H. G. Wells,
L. M. De Witt en
E. R. Long The chemistry of tuberculosis. 1923.
Williams and Williams Co., Baltimore.
26. R. H. Williams en
D. A. Nickerson Skin reactions in Sarcoid. Proc. Soc. Exper. Biol. and Med. 1935:33:403.
27. J. A. H. Wylie The pathology of infection with mycobacterium tuberculosis and its relation to that of the sarcoid group of diseases.
Thesis, Oxford University.

DE HAEMAGGLUTINATIE-REACTIE VAN MIDDLEBROOK-DUBOS

§ 1 INLEIDING.

Verschillende onderzoekers o.a. Keogh, North en Warbarton hadden aangetoond dat erythrocyten die een voorbehandeling hadden ondergaan met polysaccharide-fracties van diverse bacteriën afkomstig, geagglutineerd werden door hun specifieke antipolysaccharide sera.

Middlebrook en Dubos gaven aan dat langs deze weg het mischien mogelijk zou zijn antilichamen op te sporen die in het serum optreden als gevolg van een tuberculeuze infectie.

Aan Seibert en medewerkers was het gelukt om in cultuurfiltraten van de tuberkel-bacil naast tenminste drie proteïne-fracties ook polysaccharide-fracties aan te tonen. Middlebrook en Dubos gebruikten polysaccharide-fracties om schapenerythrocyten te sensibiliseren.

In 1948 beschreven zij hun eerste resultaten met deze haemagglutinatietest. Verschillende sera van patiënten die aan tuberculose leden, bleken in staat de gesensibiliseerde erythrocyten te doen agglutineren. De antilichamen die op deze wijze in het serum van patiënten konden worden opgespoord konden zij ook aantonen in het serum van dieren die weken tevoren met tuberkel-bacillen waren geïnfecteerd.

Wanneer men de literatuur na 1948 nagaat dan blijkt dat deze fractie al direct de volle belangstelling kreeg van de klinici. De verwachting, nu eindelijk een eenvoudige diagnostische reactie voor de tuberculose te zullen krijgen, was hoog gespannen. De eerste resultaten met deze reactie leken betrekkelijk hoopvol, ofschoon al spoedig bleek dat de reactie in deze vorm geen specifieke tuberculose-reactie was. Het is begrijpelijk dat men trachtte de bruikbaarheid van de reactie op te voeren door wijzigingen in de methodiek aan te brengen, vele publicaties zijn hieraan dan ook gewijd. Verschillende onderzoekers werd het spoedig duidelijk, dat de reactie van Middlebrook-Dubos niet berustte op een eenvoudige antigeen-antilichaam-reactie, integendeel, de antigeen-antilichaam-reactie die in het spel was, bleek buitengewoon complex van aard te zijn. Telkens opnieuw werden uit tuberkel-cultuurfiltraten fracties geïsoleerd die meer of minder sterke antigene eigenschappen bleken te bezitten. Het ideaal, een specifiek tuberkel-antigeen te vinden en in het serum van de patiënt een specifiek daartegen gericht antigeen, heeft vele onderzoekers bezig gehouden o.a. Middlebrook, Boyden, Sorkin, Iland, Peacock e.a.

Het aantal publicaties dat over de reactie van Middlebrook-

Dubos en de hiermee samenhangende problemen is verschenen is dan ook legio.

Een dissertatie geheel gewijd aan deze reactie zou dan ook ternauwernood alle facetten hiervan kunnen belichten. Vinden we in de literatuur vele gegevens over de reactie van Middlebrook-Dubos bij tuberculose, er zijn ook enkele waarnemingen gedaan met deze reactie bij de ziekte van Besnier-Boeck. Wij stelden ons uitsluitend ten doel de uitkomsten van deze reactie bij een groep van patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck te vergelijken met de ons bekende gegevens uit de literatuur.

Alvorens de resultaten te melden van de haemagglutinatie-reactie bij patiënten lijdende aan de ziekte van Besnier-Boeck, zullen wij ter oriëntatie en ter vergelijking enkele mededelingen uit de literatuur vermelden over het verloop van de reactie bij controlepersonen en bij patiënten lijdende aan tuberculose. Een beschrijving van de reactie en haar varianten gaat vooraf.

§ 2 UITVOERING VAN DE REACTIE.

a. De methodiek.

Middlebrook en Dubos gingen uit van het feit dat rode bloedlichaampjes door absorptie van verschillende stoffen aan hun oppervlak, gesensibiliseerd konden worden. Indien deze gesensibiliseerde erythrocyten in contact gebracht worden met antilichamen gericht tegen de aan hun oppervlak geabsorbeerde stoffen, dan treedt agglutinatie op.

Middlebrook en Dubos beschreven in 1948 een haemagglutinatie-reactie, waarbij zij gebruik maakten van schapenerythrocyten die door producten van de tuberkel-bacillen gesensibiliseerd waren. Ter bereiding van het antigene bacillenextract gingen zij uit van humane tuberkel-bacillen stam H37Rv.

De tuberkel-bacillen werden geënt in een bouilloncultuur. Na 14 dagen groei werden de bacillen afgefilterd, gewassen en aan de lucht gedroogd op kamertemperatuur. Hierna werd 4 gram van de gedroogde bacillen in 100 cc. 88 % phenol gesuspenseerd en goed gemengd. Na 20 uur werd de suspensie weer afgecentrifugeerd en opnieuw in een verse phenol-oplossing gebracht. Deze bewerking werd nog tweemaal herhaald. Daarna werd met behulp van aceton de phenol verwijderd. De bacillen-suspensie werd opnieuw gedroogd. 0,5 gram van dit materiaal werd gesuspenseerd in 65 cc. isotonisch waterige oplossing.

De suspensie werd omgeroerd bij 35 graden C. gedurende 20 uur. Dit extract werd door centrifugeren bevrijd van de meeste bacillen-lichamen.

Het licht opalescerende extract werd gebracht op een ph. van 6,0 en gedialyseerd tegenover gedistilleerd water gedurende 1 tot 3 dagen.

Door verdamping aan de lucht werd de hoeveelheid extract teruggebracht op 20 cc. Na centrifugeren werd een vrijwel helder extract verkregen. Dit werd gebracht op een ph. van 6,5 tot 7 en isotonisch gemaakt.

De schapenerythrocyten werden gebracht in een door Alsever aangegeven oplossing (1 op 2). In deze oplossing bleven de erythrocyten

gedurende drie maanden geschikt voor gebruik in de haemagglutinatie-reactie.

Erythrocyten uit deze oplossing werden gesensibiliseerd door de tuberkelbacillenoplossing. Hiertoe werd 0.5 cc. packed cells, na gewassen te zijn, gebracht in 10 cc. neutraal isotoon extract van deze bacillen. De suspensie werd daarna 2 uur op een waterbad van 37 graden verwarmd en daarna afgecentrifugeerd. De erythrocyten werden opnieuw driemaal gewassen en gebracht in een oplossing van 100 cc. fysiologisch zout. Deze gesensibiliseerde erythrocyten-suspensie moet binnen de drie dagen gebruikt worden voor de haemagglutinatie-reactie.

Het te onderzoeken serum werd voor conservatie-doeleinden behandeld met merthiolate tot een concentratie van 0.01 %. Aan 1 cc. serum werd 1 cc. fysiologische zoutoplossing toegevoegd. Het mengsel werd gedurende 30 min. verwarmd op 56 graden C.

Alvorens dit serum voor de haemagglutinatie-reactie te gebruiken, werd het tweemaal in contact gebracht met nog niet gesensibiliseerde schapen-erythrocyten.

Aspecifieke reacties werden op deze wijze voorkomen.

Middlebrook en Dubos verkregen met zes testsera afkomstig van tuberculeuze patiënten zes keer een positieve haemagglutinatie-reactie. De titersterkte varieerde van 1/8 tot 1/64.

Met 11 sera afkomstig van niet tuberculeuze personen werd driemaal een reactie gezien met een titer van 1/2 en eenmaal met een titer van 1/4.

Kruisreacties met Wassermann positieve sera werden niet gevonden. Op grond van de verkregen resultaten meenden Middlebrook en Dubos te doen te hebben met een vrij kenmerkende reactie.

b. Het criterium voor een positieve reactie.

Als criterium voor een positieve reactie wordt door alle onderzoekers de titersterkte van de reactie gebruikt. De meningen van de verschillende onderzoekers t.a.v. de sterkte van de reactietiter vereist voor een positieve reactie, lopen echter nogal uiteen.

Middlebrook en Dubos geven op een titersterkte van 1/8 en hoger. Pondman acht een titer van 1/8 vermoedenwekkend en 1/16 positief. Gernez Rieux en Tacquet geven als positieve reacties op, de reacties met titers van 1/16 en hoger. Scott en Smith nemen volgens Gernez Rieux en Tacquet een titer van 1/2 aan als positieve reactie.

Korte samenvatting:

Rode bloedlichaampjes kunnen aan hun oppervlak antigene substanties absorberen, afkomstig van diverse bacteriën en hun cultuurfiltraten.

Wanneer met antigenen voorbehandelde erythrocyten gebracht worden in een serum dat antilichamen bevat tegen deze antigenen dan treedt agglutinatie van de erythrocyten op.

In de reactie van Middlebrook-Dubos worden schapenerythrocyten gesensibiliseerd, met een polysaccharide fractie uit de tuberkelbacil. Indien deze schapenerythrocyten daarna gebracht worden bij

het serum van een patiënt lijdende aan tuberculose, dan treedt in een aantal gevallen agglutinatief van de erythrocyten op.

De techniek van de reactie van Middlebrook-Dubos wordt in 2 beschreven. De titersterkte van de reactie is het criterium voor een positieve reactie. De verschillende onderzoekers nemen niet steeds dezelfde titersterkte voor een positieve reactie aan. Scott en Smith nemen zeer lage titers aan voor een positieve reactie ($1/2$ en hoger). Pondman acht een titer van $1/8$ vermoedenwekkend en een titer van $1/16$ positief. Dit criterium wordt ook gegeven door Middlebrook, Sohier, Gernez-Rieux en Tacquet.

§ 3 WIJZIGINGEN VAN DE REACTIE VAN MIDDLEBROOK-DUBOS.

Na de publicatie van Middlebrook en Dubos in 1948, hebben verschillende onderzoekers diverse wijzigingen op de reactie voorgesteld en toegepast. Zij beoogden, met deze „wijzigingen“, de reactie te vereenvoudigen en te verbeteren. Naast merendeels onbelangrijke technische variaties, werden ook meer wezenlijke veranderingen op de reactie aangebracht.

De meeste van deze veranderingen hadden betrekking op:

- a) De keuze van het antigeen.
- b) De keuze van de erythrocyt resp. de voorbehandeling van deze erythrocyt tot receptor van het antigeen.
- c) Het wijzigen van de agglutinatief-reactie in een haemolyse-reactie.

a) De keuze van het antigeen.

Hetgeen de reactie van Middlebrook voor de praktijk minder geschikt maakte, was het feit, dat het niet eenvoudig bleek de polysaccharide-fractie uit de tuberkel-bacillen te verkrijgen. Scott en Smith gaven aan, dat voor de reactie ook zeer bruikbaar was een viermaal geconcentreerd oud tuberculine van Lederle. Naast dit tuberculine werden er nog vele anderen gebruikt o.a.

het tuberculine PPD Kopenhagen (Brodhage),
het Zwitserse tuberculine „Berna“ (Brodhage),
het PPD Weybridge (Boyden, Wicks),
het oud-tuberculine Koch (Gernez-Rieux en Tacquet),
het tuberculine I.P. 48 van het instituut Pasteur (Gernez-Rieux en Tacquet),
het PPD Seibert.

Gernez-Rieux en Tacquet onderzochten het sensibiliserend vermogen van verschillende tuberculines. Zij bepaalden voor verschillende tuberculines de minimum-dosis die nodig was, om $0,1$ cc. rode bloedlichaampjes zodanig te sensibiliseren, dat een agglutinatietiter van minstens $1/16$ verkregen werd met een serum van een persoon die enkele weken tevoren met BCG was gevaccineerd. Het bleek hun dat het sensibiliserend vermogen van de verschillende tuberculines zeer ongelijk was. Als minimum-dosis gaven zij op:

voor het tuberculine I.P. 48,400 T.U., PPD Kopenhagen 2000 T.U., G.T. Hoechst 20.000 T.U., het tuberculine Berna 1600 T.U., het PPD Weybridge 0.5 mg., van het tuberculine Lederle 1 cc. in een verdunding van 1/12.

Gernez-Rieux en Tacquet constateerden dat het PPD Seibert niet in staat was erythrocyten te sensibiliseren. Zij menen dat de oorzaak hiervoor gelegen was in de grote chemische zuiverheid van dit tuberculine. Hall deed dezelfde waarneming. Behalve de bovengenoemde tuberculines gebruikte men nog gezuiverde polysaccharide-fracties uit tuberculines verkregen.

Gernez-Rieux en Tacquet merken op dat er geen verband bestaat tussen de geschiktheid van een tuberculine voor het verrichten van de Mantoux-reactie en het sensibiliserend vermogen van dit tuberculine in de haemagglutinatie-reactie.

b. De keuze van de erythrocyt resp. de voorbehandeling van deze erythrocyt tot receptor van antigeen.

Middlebrook en Dubos gebruikten schapenerythrocyten als „kapstok” voor het antigeen. Het is mogelijk dat hierdoor aspecifieke reacties zouden optreden. Ten einde dit te voorkomen behandelen zij de te testen sera van te voren met nog niet gesensibiliseerde schapenerythrocyten. Tweemaal worden erythrocyten in het serum gebracht om zoveel mogelijk antilichamen te adsorberen. Sievers meent dat het aantal aspecifieke reacties nog is terug te brengen door het serum niet tweemaal doch zesmaal te adsorberen.

Pondman merkt op dat dit een zeer tijdrovende bewerking is waarbij veel materiaal gemoeid is, n.l. ongeveer 10 cc. schapenbloed voor de absorptie van een te onderzoeken serum. Hij acht daarom de methode van Sohier die uitgaat van mensenerythrocyten van bloedgroep 0, meer belovend.

Pondman onderzocht een aantal sera zowel met schapenerythrocyten als met mensenerythrocyten. Naast het reeds genoemde voordeel ondervond hij ook een nadeel bij het gebruik van mensenerythrocyten. Het aflezen van de reactie bleek n.l. veel moeilijker te zijn dan bij gebruik van schapenerythrocyten. De geagglutineerde erythrocyten vertoonden een veel geringere samenhang. Bovendien bleken de mensenerythrocyten minder goed houdbaar in de Alsever-oplossing. De reacties zelf verliepen met behulp van gesensibiliseerde mensenerythrocyten overeenkomstig die, waarbij men uitging van gesensibiliseerde schapenerythrocyten.

Verschillende onderzoekers behandelen de erythrocyten alvorens ze te sensibiliseren met verschillende stoffen. Schiff en Seidlitz toonden aan dat de erythrocyten in de Middlebrook-Dubos-reactie in versterkte mate tot agglutinatie in staat waren, indien zij tevoren met papaïne waren behandeld.

Matuhasi beschrijft dit voor met trypsine behandelde erythrocyten. In ongeveer 50 % der gevallen bleek de haemagglutinatie-titer meer dan 4 x zo hoog te zijn dan bij gebruikmaking van niet met

trypsine behandelde erythrocyten. Het trypsine gaf in 40 % der gevallen echter niet specifieke agglutinatie-reacties. Het bleek dat het actieve principe voor deze niet specifieke reacties wel door adsorptie verwijderd kon worden onder behoud van de hoge titers in de haemagglutinatie-reactie.

Boyden doet mededelingen over een gewijzigde haemagglutinatie-reactie waarbij de erythrocyten worden behandeld met tanninezuur. Wanneer men aldus voorbehandelde erythrocyten mengt met een eiwitoplossing, dan worden eiwitmoleculen aan het oppervlak van de erythrocyten geadsorbeerd. In een corresponderend anti-eiwitserum treedt agglutinatie van deze erythrocyten op. Met tannine behandelde erythrocyten zijn dus in staat andere antigenen uit cultuur-infiltraten van de tuberkel-bacil te adsorberen dan niet behandelde erythrocyten. Boyden heeft aangetoond, dat de antilichamen welke in het serum van een lijder aan tuberculose op deze wijze kunnen worden opgespoord, andere waren dan die welke men aantoonde met de normale Middlebrook-Dubos-reactie.

c. Het wijzigen van de agglutinatie-reactie in een haemolyse-reactie.

Middlebrook zelf stelde in 1950 een modificatie van zijn reactie voor. Het optreden van een antigeen-antilichaam-reactie wordt in de oorspronkelijke reactie afgeleid uit het feit van agglutinatie der erythrocyten in het testserum. Bij de gemodificeerde reactie van Middlebrook leidt men dit af uit het verschijnsel van haemolyse der rode cellen. De haemolyse-reactie is eenvoudiger te beoordelen dan de agglutinatie-reactie.

De techniek van deze complementbindende haemolyse-reactie is in hoofdzaak gelijk aan de haemagglutinatie-reactie. Ook hier worden schapenerythrocyten door het antigeen gesensibiliseerd. Schapenerythrocyten zijn voor de haemolyse-reactie het meest geschikt omdat zij het gemakkelijkste gesensibiliseerd worden (Gernez-Rieux). In het te onderzoeken serum wordt het complement geïnactiveerd door het serum gedurende 30 min. op 56 graden te verwarmen. Brengt men de gesensibiliseerde erythrocyten zonder meer bij het (geïnactiveerde) testserum dan treedt bij een positieve reactie agglutinatie op der erythrocyten. Voegt men echter complement toe, dan maakt de agglutinatie plaats voor een haemolyse der erythrocyten. Caviaserum leent zich het beste voor de bereiding van het complement. In principe zou men ook het complement, aanwezig in het testserum, voor de reactie kunnen gebruiken. Daar het gehalte aan complement in de verschillende sera echter sterk uiteen loopt, zou men geen vergelijkbare resultaten verkrijgen. Het complement dat men dus toevoegt dient steeds eenzelfde haemolytische activiteit te bezitten.

Men drukt de haemolytische sterkte van het complement uit in eenheden. Een eenheid is de minimum-hoeveelheid complement die nodig is om 0,25 cc. schapenerythrocyten, bij aanwezigheid van een overmaat haemolytisch serum, te doen haemolysen.

Middlebrook geeft als optimale hoeveelheid complement voor de haemolyse-reactie op 3 eenheden. Gernez-Rieux eveneens 3 eenheden. Maillard en Gagliardo adviseren op grond van hun onderzoekingen 4 eenheden als optimaal werkzame dosis. Het caviaserum dat als complement gebruikt wordt dient ontdaan te worden van haemagglutinines en haemolysines gericht tegen schapenerythrocyten.

Met dit doel wordt het caviaserum enige malen voorbehandeld met nog niet gesensibiliseerde schapenerythrocyten.

Korte samenvatting:

Na de oorspronkelijke publicatie van Middlebrook en Dubos hebben verschillende onderzoekers wijzigingen op de reactie voorgesteld.

Het antigeen dat door Middlebrook gebruikt werd om de schapenerythrocyten te sensibiliseren is zeer moeilijk te bereiden. Scott en Smith gaven aan dat hiertoe ook zeer bruikbaar was een viermaal geconcentreerd oud tuberculine van Lederle. Ook vele andere tuberculines bleken in staat de erythrocyten te sensibiliseren.

Wel is gebleken dat het sensibiliserend vermogen van de verschillende tuberculines zeer ongelijk is (Gernez-Rieux en Tacquet). Ten onrechte positieve agglutinatie-reacties kunnen te wijten zijn aan de aanwezigheid van antilichamen in het patiëntens serum gericht tegen schapenerythrocyten. Middlebrook verwijderde deze door het te onderzoeken serum tevoren met normale schapenerythrocyten te behandelen.

Sievers meent dat het serum vele malen op deze wijze moet worden voorbehandeld, om het aantal ten onrechte positieve agglutinatie-reacties zoveel mogelijk te reduceren. Een andere mogelijkheid om deze specifieke reacties te vermijden, is het gebruik van mensenerythrocysten in plaats van schapenerythrocyten.

Pondman tekent hier echter bij aan, dat de agglutinatie-reactie bij gebruikmaking van mensenerythrocysten moeilijker is af te lezen dan wanneer schapenerythrocyten gebruikt worden.

De geschiktheid van de erythrocyt om antigenen te adsorberen zou verbeterd kunnen worden door de erythrocyten een voorbehandeling te laten ondergaan met diverse stoffen o.a. papaine, trypsine, tanninezuur.

Boyden toonde aan dat met tannine voorbehandelde erythrocyten andere antigenen aan hun oppervlak adsorberen dan niet voorbehandelde erythrocyten. Hij toonde aan dat op deze wijze eiwitfracties geadsorbeerd konden worden.

Een veel toegepaste reactiemodificatie werd door Middlebrook zelf voorgesteld. Wanneer men aan het te onderzoeken serum complement toevoegt dan maakt de agglutinatie-reactie plaats voor een haemolyse-reactie. Uit het feit van haemolyse der rode cellen kan men dan afleiden dat de antigeen-antilichaam-reactie heeft plaats gehad. De haemolyse-reactie zou gemakkelijker zijn af te lezen dan de agglutinatie-reactie.

§ 4 DE ANTIGENEN VERANTWOORDELIJK VOOR DE HAEMAGGLUTINATIE-REACTIE.

Geruime tijd had men ter bestudering van de antigene eigenschappen van cultuur-filtraten van tuberkel-bacillen uitsluitend de beschikking over de praecipitatie-reactie.

De haemagglutinatie-reactie vormt in dit opzicht een aanwinst en maakt het mogelijk verschillende soorten antilichamen aan te tonen in serum van lijders aan tuberculose gericht tegen diverse antigenen die uit cultuur-filtraten geïsoleerd werden.

a. De antigene fracties van de tuberkel-bacil en cultuur-filtraten.

Verschillende onderzoekers veronderstelden dat er in oud-tuberculine meer dan een erythrocyten-suspensie-sensibiliserende substantie aanwezig zou zijn. De diagnostische betekenis van de reactie van Middlebrook-Dubos zou stijgen indien een of meerdere van die factoren geëlimineerd zouden kunnen worden. Verschillende onderzoekers heeft dit ertoe gebracht het tuberculine te fractioneren, in de hoop een meer specifiek antigeen te verkrijgen voor het verrichten van de reactie.

Pound praecipiteerde materiaal uit een methanolphosphaat-extract van „heat-killed” bacillen door middel van wisselende hoeveelheden alcohol. Hij kwam tot de conclusie dat er tenminste drie componenten zouden zijn die aan erythrocyten geadsorbeerd zouden kunnen worden.

Boyden en Sorkin doen mededelingen over hun experimenten waarbij zij verschillende fracties testten op hun activiteit in de Middlebrook-Dubos-reactie. De fracties werden bereid uit filtraten van verhitte en onverhitte cultures zoals aangegeven door Seibert e.a. Zoals te verwachten was, bleken de verschillende fracties in hun activiteit t.a.v. de Middlebrook-Dubos-reactie sterk uiteen te lopen. Sommige fracties bleken in staat de erythrocytensuspensie meer dan 1000 x sterker te sensibiliseren dan andere.

b. Het erythrocytensensibiliserende principe.

De meest actief sensibiliserende suspensies werden door Boyden en Sorkin gebruikt voor „Cross-inhibition”-tests met de bedoeling iets te achterhalen omtrent de specificiteit van de sensibiliserende substanties in de verschillende fracties. Het principe van deze „Cross-inhibition”-test toegepast bij de Middlebrook-Dubos-reactie is het volgende:

Een antigeen kan reageren met zijn antilichaam, zodat dit laatste geneutraliseerd wordt. De antilichamen zijn niet langer meer in staat rode bloedlichaampjes die tevoren met ditzelfde antigeen gesensibiliseerd waren te doen agglutineren. De agglutinatie-reactie wordt dus opgeheven of verzwakt. Van elk der antigene fracties kan men nu nagaan of zij samengebracht met serum, in staat zijn, de agglutinatie van door een bepaald antigeen gesensibiliseerde erythrocyten, in dit serum te verhin-

deren of te verzwakken. Indien twee fracties wat betreft de antigene opbouw aan elkaar verwant zijn (antigenen of determinerende groepen delen) dan mag men remming verwachten.

Vele fracties, bereid uit cultuur-filtraten, werden door Boyden en Sorkin op deze wijze onderling getest.

Voor wat betreft acht verschillende fracties, bereid uit verhitte cultuur-filtraten, kwamen zij tot de conclusie, dat deze alle in staat waren onderlinge Cross-inhibition te verwekken.

Boyden meent op grond hiervan dat de substanties uit de verschillende fracties bepaalde antigene eigenschappen gemeen hadden.

De resultaten die zij verkregen met soortgelijke experimenten, maar nu uitgevoerd met onverhitte cultuur-filtraten en fracties uit deze filtraten, waren echter anders. Er zijn aanwijzingen dat in niet verhitte cultuur-filtraten tenminste twee substanties aanwezig zijn van onderscheiden serologische specificiteit. Een hiervan is waarschijnlijk identiek met het z.g. „a-haemosensitine“, aanwezig in PPD en andere verhitte fracties.

Het tweede, het „b-haemosensitine“, komt niet voor in verhitte fracties.

Ook verschillende fracties uit onverhitte filtraten werden met deze methode onderzocht. De meeste van deze fracties vielen voor wat betreft hun antigene eigenschappen in een van deze groepen. Enkele fracties gedroegen zich noch als a- noch als b-haemosensitine.

Boyden, Grabar et. al, Meynell, toonden aan, dat wanneer de erythrocyten waren voorbehandeld met tannine, er andere antigenen konden worden opgespoord dan met de oorspronkelijke Middlebrook-Dubos-methode. Zo konden Boyden en Sorkin bij gebruikmaking van niet verhitte filtraten met deze tannine-methode 4 onderscheiden antigene substanties aantonen.

Cross-inhibition tussen deze fracties was niet aanwezig.

c. De chemische aard van het erythrocytensensibiliserende principe.

Het vraagstuk: hoe is de chemische samenstelling of zelfs hoe is de chemische aard van de twee haemosensitines die betrokken zijn bij de Middlebrook-Dubos-reactie is nog niet opgelost.

Middlebrook, Boyden en Sorkin, Graber zijn van oordeel dat er belangrijke aanwijzingen zijn dat deze stoffen een polysaccharide-structuur hebben.

Boyden acht dit aangetoond voor het a-haemosensitine, doch niet voor het b-haemosensitine.

Iland en Peacock delen deze mening niet, op grond van hun resultaten in het volgende experiment:

Met behulp van een polysaccharide-oplossing van Seibert werden schapen-erythrocyten gesensibiliseerd. Deze erythrocyten werden daarna afgecentrifugeerd. Met behulp van de erboven staande vloeistof werden dan weer schapenerythrocyten gesensibiliseerd. Deze bewerking werd meerdere malen herhaald. Zij bepaalden nu telkens a) de sterkte van de polysaccharide-oplossing in de praecipitatie-reactie en b) het agglutinerend

vermogen van elk monster gesensibiliseerde erythrocyten met de haemagglutinatie-reactie.

Iland en Paecock constateerden dat de polysaccharide-oplossing zijn praecipiterende sterkte bleef behouden doch dat de haemagglutinatietiter van de erythrocyten geleidelijk tot geringe waarden terugliep.

Zij concludeerden dat het polysaccharide dus niet geadsorbeerd werd aan de gesensibiliseerde cellen.

Het boven beschreven experiment werd op de volgende wijze nog uitgebreid: Het praecipitatie-serum werd verzadigd met een optimale hoeveelheid polysaccharide. Het nu verkregen adsorptieserum bleek geen praecipitatie-reactie meer te geven doch nog steeds wel in staat te zijn positieve haemagglutinatie-reacties te bewerkstelligen.

Zij menen op grond hiervan de conclusie te mogen trekken dat het onwaarschijnlijk is dat polysacchariden verantwoordelijk zijn voor de antigeen-antilichaam-reactie in de haemagglutinatietest.

Zij gaan zelfs verder wanneer zij zeggen, dat, zolang niet het tegendeel bewezen is, zij de haemagglutinatie-reactie beschouwen als een versterking van een aspecifieke reactie of als een „complex phenomenon“.

Iland en Peacock vatten de huidige stand van het onderzoek als volgt samen: alle polysacchariden welke van de tuberkel-bacillen werden geïsoleerd en gezuiverd, schijnen een en hetzelfde haptene te bevatten. Antigeen-antilichaam-reacties met dit haptene zijn zelden gevonden in sera van patiënten welke aan tuberculose lijden, ofschoon het gemakkelijk gevormd wordt bij dieren die met dode tuberkel-bacillen worden ingespoten.

In een discussie over de experimenten van Iland en Peacock uit Middlebrook zijn kritiek tegen de conclusies die uit het onderzoek getrokken werden. Hij verwijst naar zijn eigen onderzoekingen die op eenzelfde wijze werden uitgevoerd als door Iland en Peacock en waarbij hij enige malen eenzelfde waarneming had gedaan.

Middlebrook handelde met een polysaccharide-oplossing op dezelfde wijze als Iland en Paecock. Na de voorbehandeling bleek ook deze oplossing niet meer in staat erythrocyten te sensibiliseren. Wel bleek zij in staat de haemagglutinatie-reactie in het serum op te heffen.

Naast serologische reacties had Middlebrook tevens chemische bepalingen van de hoeveelheid polysaccharide doen verrichten die telkens in de oplossing achterbleef. Het was toen duidelijk geworden dat slechts 40 % van de oorspronkelijke hoeveelheid polysaccharide in de oplossing was achtergebleven.

Ter verklaring nam Middlebrook niet een, doch twee polysacchariden in de oplossing aan. Beide polysacchariden waren dragers van het antigeen, doch het ene miste de chemische trait d'union die nodig is voor adsorptie aan de erythrocyten.

Middlebrook concludeerde dat wel degelijk polysacchariden aan het oppervlak van de erythrocyten werden geadsorbeerd.

Korte samenvatting:

In de Middlebrook-Dubos-reactie heeft men te doen met een antigeen-antilichaam-reactie van zeer complexe aard. Boyden en Sorkin vonden dat verschillende fracties afkomstig van de tuberkel-bacil en haar cultuur-filtraten in staat waren erythrocyten te sensibiliseren zodanig dat deze in een serum van patiënten lijdende aan tuberculose geagglutineerd werden.

Het sensibiliserend vermogen van de diverse fracties van de tuberkel-bacil is echter zeer ongelijk. Men heeft zich afgevraagd of het sensibiliserend principe in deze verschillende fracties hetzelfde was. Boyden en Sorkin gingen dit na voor verschillende fracties uit verhitte cultuur-filtraten, onverhitte cultuur-filtraten en diverse fracties uit deze onverhitte filtraten. De resultaten van hun onderzoekingen maakten het waarschijnlijk dat de acht door hen onderzochte fracties uit verhitte filtraten, hetzelfde antigene principe gemeen hadden. Het a-haemosensitine.

In niet verhitte cultuur-filtraten zou naast dit a-haemosensitine nog een ander antigeen principe aanwezig zijn, het b-haemosensitine. Bij een nader onderzoek van verschillende fracties uit deze niet verhitte filtraten bleek, dat een deel van deze fracties het a-haemosensitine als antigeen principe bezat en een ander deel der fracties het b-haemosensitine. Enkele fracties bezaten noch het a-noch het b-haemosensitine. Zij toonden door gebruik te maken van met tannine voorbehandelde erythrocyten, een viertal andere en van elkaar onderscheiden antigene principes aan, in niet verhitte cultuur-filtraten.

De vraag naar de chemische aard van de verschillende haemosensitines betrokken in de Middlebrook-Dubos-reactie is nog niet opgelost.

Middlebrook, Boyden en Sorkin, Grabar zijn van oordeel dat deze stoffen van polysaccharide-structuur zijn. Iland en Paacock betwijfelen dit voornamelijk.

§ 5 DE HAEMAGGLUTINATIE-REACTIE BIJ GEZONDE PERSONEN.

De haemagglutinatie-reactie van Middlebrook-Dubos kan positief verlopen bij gezonde personen. Het is begrijpelijk dat men zich heeft afgevraagd, of er in zulke gevallen geen onopgemerkte tuberculose is geweest, of althans enig contact met de tuberkel-bacil is voorafgegaan. Voor deze gedachtengang zou men steun kunnen vinden in de waarnemingen dat patiënten die genezen zijn van hun tuberculose nog jarenlang een positieve haemagglutinatie-reactie kunnen behouden (Gernez-Rieux). Lucentini en Roisvert vonden frequent hoge reactietiters bij klinisch gezonde laboratoriumwerkers die veelvuldig in contact kwamen met tuberkel-bacillen en tuberculine.

In verband met het bovenstaande is het van belang bij de beoordeling van de positieve haemagglutinatie-reactie bij gezonden een onderscheid te maken voor gezonde pasgeboren zuigelin-

gen, waarbij dus nog geen contact met de tuberkel-bacil is voorafgegaan, gezonde tuberculine-gevoelige en gezonde tuberculine-ongevoelige personen. Tenslotte kan nog nagegaan worden of door het verrichten van een tuberculine-reactie of van een BCG-vaccinatie een wijziging van de haemagglutinatie optreedt.

a) de reactie bij gezonde pasgeborenen.

Gernez-Rieux en Tacquet vonden met het serum van 4 pasgeborenen van gezonde moeders, totaal geen reactie. De vier moeders hadden daarentegen de volgende titers in de haemagglutinatie-reactie: $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{8}$, $\frac{1}{8}$.

Brey et. al. deden dezelfde waarneming bij 155 pasgeborenen.

b) de reactie bij tuberculine-gevoelige en ongevoelige normale personen (tabel 13).

Smith en Scott vonden opvallend hoge aantallen positieve reacties bij tuberculine-gevoelige personen (50 %), daarentegen een gering aantal positieve reacties bij tuberculine-ongevoelige personen (7 %). Volgens Gernez-Rieux is de titersterkte die zij voor een positieve reactie aannamen wel bijzonder laag ($\frac{1}{2}$). Fleming et. al., Adcock et. al. vinden eveneens een hoger percentage positieve reacties bij tuberculine-gevoeligen. Zij het dat hun getallen niet zo sterk uiteenlopen als bij Scott en Smith. Zij vingen resp. 21 % tegenover 13 % en 31 % tegenover 13 %.

Pondman wil op grond van zijn gegevens geen uitspraak doen ten aanzien van een eventuele correlatie tussen positieve haemaggluti-

TABEL 13. De Haemagglutinatie-reactie en de tuberculine-gevoeligheid bij gezonden.

Schrijver	Tuberculine-positief				Tuberculine-negatief			
	Haemagglutinatie				Haemagglutinatie			
	Aantal	pos.	titer	% +	Aantal	pos.	titer	% +
Smith en Scott	71	36	= $\frac{1}{2}$ en	> 50 ⁰ / ₀	28	2	= $\frac{1}{2}$ en	> 7 ⁰ / ₀
Fleming et. al.	42	9	= $\frac{1}{16}$ en	> 21 ⁰ / ₀	115	15	= $\frac{1}{16}$ en	> 13 ⁰ / ₀
Adcock et. al.	55	17	= $\frac{1}{8}$ en	> 31 ⁰ / ₀	201	27	= $\frac{1}{8}$ en	> 13 ⁰ / ₀
Hall	61	13	= $\frac{1}{8}$ en	> 21 ⁰ / ₀	67	7	= $\frac{1}{8}$ en	> 10 ⁰ / ₀
Pondman	23	2	= $\frac{1}{8}$ en	> 8 ⁰ / ₀	43	7	= $\frac{1}{8}$ en	> 16 ⁰ / ₀

natie en tuberculine-gevoeligheid. Hij vermeldt dat Sohier een dergelijke correlatie ontkent en dat Sievers eveneens geen duidelijke correlatie meent te mogen aannemen.

Gernez-Rieux deelt mede dat hij bij tuberculine-ongevoelige kinderen als regel slechts zeer lage titers vindt. Uitzonderingen hierop neemt hij ook waar. Fleming deed dezelfde waarneming.

c) het wijzigen van de haemagglutinatietiter na het verrichten van de tuberculine-reactie.

Pondman ging de invloed van de Pirquet-reactie op de haemagglutinatie-reactie na bij 66 studenten.

Nadat van deze 66 studenten bloed was afgenomen voor het verrichten der haemagglutinatie-reactie werd bij allen de reactie van Pirquet uitgevoerd.

Bij 23 personen gaf deze laatste reactie een positieve uitslag. De uitslagen van de haemagglutinatie-reactie bij deze personen waren als volgt:

titer	0	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{8}$	
aantal	6	8	7	2	(totaal 23)

Veertien dagen later werd bij 19 van deze 23 personen de haemagglutinatie-reactie opnieuw verricht.

titer	0	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{8}$	
aantal	8	7	4	—	(totaal 19)

Bij 43 studenten bleek de reactie van Pirquet negatief te zijn. De daarbij verrichte haemagglutinatie-reactie had het volgende be-loop genomen:

titer	0	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{8}$	$\frac{1}{16}$	
aantal	20	6	10	5	2	(totaal 43)

Hierbij werd eveneens, nu bij 37 van de 43 personen, de haemagglutinatie-reactie na 14 dagen opnieuw verricht.

titer	0	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{8}$	$\frac{1}{16}$	
aantal	14	11	7	3	1	(totaal 37)

Pondman vindt dus 14 dagen na het verrichten van de Pirquet-reactie, (oud tuberculine Utrecht) noch een toename van het aantal positieve reacties, noch een toename van titersterkten. Een stimulerende werking van het oud tuberculine Utrecht op de haemagglutinaties werd door hem dus niet waargenomen.

Gernez-Rieux en Tacquet verrichtten achtereenvolgens vele malen de tuberculine-reactie (I.P. 48) bij 6 gezonde personen met een negatieve tuberculine- en negatieve haemagglutinatie-reactie. Nadat een serie van tuberculine-reacties was verricht werd bloed afgenomen voor het verrichten der haemagglutinatie-reactie. Vijf sera vertoonden geen enkele titerverhoging in de haemagglutinatie-reactie. In een serum waren de titers wat verhoogd. De betrok-

ken persoon had toen in totaal 133 I.-eenheden I.P. 48 gehad. In het dierexperiment vonden zij na zeer hoge dosis tuberculine stijging van de haemagglutinatietiters. Zij houden het voor mogelijk dat tuberculine in zeer hoge doses een stimulerende invloed uitoefent.

d) het wijzigen van de haemagglutinatietiter na het verrichten van BCG-vaccinatie.

Verschillende onderzoekers hebben de invloed van BCG-vaccinatie op het verloop van de haemagglutinatie nagegaan.

Smith en Scott vonden 4 maanden na vaccinatie bij 40 verpleegsters 30 x een positieve reactie. In vier gevallen van positieve haemagglutinatie-reactie was de tuberculine-reactie negatief gebleven.

Fleming vond bij 10 verpleegsters vijfmaal een positieve reactie 6 weken na vaccinatie.

Gernez-Rieux en Tacquet bepaalden de haemagglutinatietiter bij 45 jeugdige personen voor de BCG-vaccinatie en op verschillende tijdstippen erna.

Voor de vaccinatie werd geen enkele maal een titer gevonden van 1/16 of hoger. Na de vaccinatie werden deze wel gevonden:

Na 1-2 maanden in 34,7 % der gevallen.

Na 2-6 maanden in 50 % der gevallen.

Na 6 maanden-1 jaar in 16,6 % der gevallen.

e) de mogelijke betekenis van andere factoren bij het optreden van positieve haemagglutinatie-reacties bij gezonde personen.

Fisher kon in het dierexperiment positieve haemagglutinaties opwekken na infectie van de dieren met het mycobacterium aviaire, met het mycobacterium phlei en het mycobacterium ulcerans.

Gernez-Rieux en Montestruc verkregen in 97 % der gevallen positieve haemagglutinatie-reacties met sera van leprozen.

Rothbard kon bij konijnen positieve haemagglutinatie-reacties opwekken na hen geïnfecteerd te hebben met staphylococcus albus.

Korte samenvatting:

Het zwakke punt van de haemagglutinatie-reactie, als diagnosticum bij de tuberculose is gelegen in het feit dat ook gezonde personen positieve reacties kunnen geven.

De percentages positieve reacties bij gezonden en bij zieken, niet lijdende aan tuberculose, worden door de verschillende onderzoekers anders opgegeven.

Het merendeel der schrijvers vermeldt positieve reacties in 10-30 % der gevallen. Op de kinderleeftijd zijn deze percentages lager dan op volwassen leeftijd. (Gernez-Rieux).

De vraag of de tuberculine-gevoeligheid van invloed is op het optreden van positieve reacties wordt verschillend beantwoord. Smith en Scott, Flemming et. al., Adcock vinden hogere percentages

positieve reacties bij tuberculine-gevoelige personen. Pondman wil op grond van zijn gegevens geen uitspraak doen. Sievers zag eveneens geen duidelijke correlatie, Sohier ontkent een correlatie. Pondman vond 14 dagen na het verrichten van de Pirquet-reactie geen toename van het aantal positieve reacties noch een toename van titersterkten bij een groep van gezonde studenten.

Smith en Scott, Flemming, Gernez-Rieux en Tacquet vonden, dat na verrichten van de BCG-vaccinatie de haemagglutinatie-reactie in een aantal gevallen positief werd. Gernez-Rieux vond 2-6 maanden na vaccinatie in 50 % der gevallen de haemagglutinatie-reactie positief.

§ 6 DE HAEMAGGLUTINATIE-REACTIE BIJ PATIENTEN LIJDENDE AAN TUBERCULOSE EN BIJ CONTROLE-GROEPEN.

a. Resultaten uit de literatuur (Tabel 14).

Teneinde een indruk te krijgen in de frequentie van voorkomen van positieve reacties bij tuberculose en bij controle-groepen, hebben wij enkele opgaven uit de literatuur in tabel 14 bijeengebracht. Opgemerkt moet worden dat deze tabel dus geen overzicht geeft van alle in de literatuur vermelde reacties.

Het verzamelen van een zoveel mogelijk volledige lijst heeft, afgezien nog van de beperkingen die wij ons moeten opleggen, weinig zin, omdat men daardoor geen wezenlijk andere indruk over de frequentie van positief verlopende reacties zou verkrijgen. De volgende redenen zijn hiervoor aan te voeren:

- 1) Het patiënten-materiaal en de eventuele controle-groep is in de verschillende publicaties zeer ongelijk. In hoofdzaak actieve gevallen van tuberculose bij de ene onderzoeker, staan tegenover in hoofdzaak inactieve gevallen bij een andere onderzoeker. Als controle-groepen worden gebruikt patiënten niet tuberculoselidders en gezonden, vermeldingen van de tuberculine-gevoeligheid ontbreken veelal.
- 2) De beoordeling van het feit of een haemagglutinatie-reactie positief dan wel negatief verloopt, is aan weinig-objectieve maatstaven te verbinden. Titersterkten worden niet steeds opgegeven. Het criterium van titersterkte voor een positieve reactie wordt door verschillende onderzoekers anders gehanteerd.
- 3) Er worden verschillende methodieken en gewijzigde reacties toegepast.

b. De resultaten van de complement-bindende haemolytische reactie ter vergelijking met die van de haemagglutinatie-reactie (Tabel 15).

Verschiedende schrijvers vermeldden de resultaten die zij verkregen met behulp van de haemolytische modificatie van de haemagglutinatie-reactie. Ter vergelijking met de haemagglutinatie-reactie worden enkele van deze resultaten in tabel 15 vermeld.

TABEL 14. De haemagglutinatie-reactie bij patiënten lijdende aan tuberculose en bij controle-groepen.

Schrijvers	Gezonden				niet tuberculeuze aandoeningen.				Tuberculose				Titergrens voor positieve reactie
	Aantal	neg.	pos.	‰ +	Aantal	neg.	pos.	‰ +	Aantal	neg.	pos.	‰ +	
Rothbard et. al.	110	110	0	0	106	106	0	0	168	13	155	92	= 1/8 en >
Smith en Scott	99	61	38	38	11	11	0	0	104	21	83	80	= 1/2 en >
Sievers et. al.	19	19	0	0	102	84	18	17	86	40	46	53	= 1/16 en >
Gernez-Rieuz en Tacquet	244	227	17	7	70	67	3	4	504	102	402	79	= 1/16 en >
Sohier et. al.	130	111	19	14	15	15	0	0	30	10	20	66	= 1/9,2 en >
Fleming et. al.	157	133	24	15	63	52	11	17	376	139	237	63	= 1/16 en >
Avezzu					64	50	14	21	98	13	85	86	= 1/16 en >
Brodhage	37	1	36	97					160	7	153	95	= 1/16 en >
Bray et. al.	314	304	10	3	192	174	18	9	219	29	190	86	= 1/16 en >
Lapponi en Lalle	15	14	1	7					51	26	25	49	= 1/16 en >
Adcock et. al.	256	212	44	17					66	30	36	54	= 1/8 en >
Hall	128	108	20	15					151	66	85	56	= 1/8 en >
Shoji	12	12	0	0	28	22	6	21	81	56	25	30	= 1/16 en >
Mollov en Kott	88	62	26	29					100	31	69	69	= 1/8 en >
Bernard en Kreis	230	205	25	10	14	12	2	14	209	65	144	68	= 1/16 en >
Pondman	66	57	9	13					66	17	49	74	= 1/8 en >

TABEL 15. De haemolytische reactie bij patienten lijdende aan tuberculose en bij controle-groepen.

Schrijvers	Gezonden			niet tuberculeuze aandoeningen.			Tuberculose			Titergrens voor positieve reactie			
	Aantal	neg.	pos.	% +	Aantal	neg.	pos.	% +					
Middlebrook					10	10	0	0	27	3	24	88	= 1/8 en >
Gernez-Rieux en Taquet					121	105	16	13	208	50	158	76	= 1/16 en >
Lucentini	12	11	1	8	9	7	2	22	67	37	30	44	= 1/16 en >
Hall	112	70	42	37					115	21	94	81	= 1/8 en >
Maillard en Gagliardo	158	158	—	0	121	121	0	0	63	32	31	49	= 1/8 en >

c. De klinische betekenis van de haemagglutinatie-reactie bij tuberculose.

Zoals uit tabel 14 blijkt worden de percentages positieve reacties, verkregen bij patiënten lijdende aan tuberculose, door de verschillende onderzoekers uiteenlopend opgegeven.

Hoge percentages positieve reacties worden o.a. opgegeven door Rothbard et. al. (92 %), door Brodhage (95 %), Avezzu (86 %).

Tegenover deze opgaven van hoge percentages staan opgaven van andere onderzoekers die zeer lage percentages positieve reacties vonden. Het merendeel der onderzoekers vindt bij tuberculose de haemagglutinatie-reactie positief in 50 %-80 % der gevallen. Bij inactieve vormen van longtuberculose worden als regel lagere percentages positieve reacties gevonden, bij actieve vormen hogere. Zo vonden Schwartz et. al. in 71 gevallen van actieve longtuberculose positieve reacties in 88 % der gevallen. Daarentegen vonden zij in 260 gevallen van inactieve longtuberculose de haemagglutinatie-reactie positief in 53 % der gevallen. Voor wat betreft de verschillende vormen van orgaantuberculose zijn de opgaven voor positieve reacties weinig afwijkend van die voor tuberculose in het algemeen.

Belz vond in 60 gevallen van oogtuberculose in 72 % der gevallen een positieve reactie. Bret bij 31 gevallen van genitaaltuberculose 71 % positieve reacties. Marco Ahuir op 221 gevallen van gewricht- en bottuberculose 64 % positieve reacties.

Bij gezonden en bij patiënten niet lijdende aan tuberculose worden door de meeste schrijvers positieve reacties gevonden in 10-30 % der gevallen. Ook hier komen hogere en lagere opgaven voor. Het is begrijpelijk dat de meningen van de verschillende onderzoekers t.a.v. de appreciatie van de reactie in de kliniek uiteen lopen, al naar gelang de resultaten die zij zelf verkregen.

Brodhage die zeer ongunstige percentages positieve reacties verkreeg in controle-groepen, kent aan de haemagglutinatie-reactie geen enkele klinische betekenis toe. Scott en Smith hechtten geen diagnostische betekenis aan de reactie. Gernez-Rieux en Tacquet die veel gunstiger resultaten verkregen hechtten meer waarde aan de reactie voor gebruik in de kliniek. Positieve reacties met hoge titers kunnen mede een aanwijzing zijn bij het stellen van de diagnose. Zij vinden dit vooral van belang bij de tuberculose op de kinderleeftijd.

Enerzijds zijn op de kinderleeftijd de ten onrechte positieve reacties zeldzamer dan bij volwassenen, anderzijds vond Gernez-Rieux zeer hoge percentages positieve reacties bij kinderen in gevallen van primaire longtuberculose. Zo vond hij in 18 gevallen van primaire longtuberculose in 100 % der gevallen een positieve haemagglutinatie-reactie (titersterkte 1/16 en hoger).

Gernez-Rieux en Tacquet verrichtten de haemagglutinatie-reactie op verschillende momenten in het verloop van een tuberculeuze infectie. Bij achttien op deze wijze gecontroleerde ziekteprocessen konden zij echter geen correlatie aantonen tussen een verbeterde

of verslechterde klinische toestand en het verloop van de haemagglutinatietiters. Verstraeten deed dezelfde waarneming. Evenmin bleek er een verband te bestaan tussen het verloop van de bezinkingssnelheid der erythrocyten en de haemagglutinatietiters.

Korte samenvatting:

Bij patiënten lijdende aan tuberculose wordt de haemagglutinatie-reactie in significant hogere percentages positief gevonden dan in controle-groepen van niet tuberculose-patiënten.

De percentages positieve reacties bij tuberculose lopen bij de verschillende onderzoekers nogal uiteen. Als reden hiervoor kunnen o.a. worden opgegeven:

- a) het gebruik van verschillende antigenen en reactie-technieken.
- b) de verschillende interpretaties van de titersterkte voor een positieve reactie.
- c) een verschillende samenstelling van de diverse patiënten-groepen (actieve en niet actieve gevallen van tuberculose).

De meeste onderzoekers vinden bij tuberculose, positieve haemagglutinatie-reacties in 50-80 % der gevallen.

Schwartz et. al. vonden hogere percentages bij actieve gevallen dan bij inactieve gevallen van tuberculose. In hun oordeel t.a.v. de betekenis van de reactie voor de kliniek lopen de meningen van de verschillende onderzoekers uiteen.

Brodhage die zeer ongunstige percentages positieve reacties verkreeg in controlegroepen kent aan de haemagglutinatie-reactie geen enkele klinische betekenis toe.

Gernez-Rieux en Tacquet die veel gunstiger resultaten verkregen hechten meer waarde aan de reactie voor gebruik in de kliniek. Positieve reacties met hoge titers kunnen mede een aanwijzing zijn bij het stellen van de diagnose. Dit geldt vooral voor de kinderleeftijd waar het aantal ten onrechte positieve reacties veel kleiner is dan op volwassen leeftijd. Een correlatie tussen het klinisch beloop en het verloop van de haemagglutinatie-reactie tijdens een ziekteproces werd door Gernez-Rieux en Tacquet niet gevonden. Andere onderzoekers (Verstraeten) delen deze opvatting.

§ 7 DE HAEMAGGLUTINATIE-REACTIE BIJ PATIENTEN
LIJDENDE AAN DE ZIEKTE VAN BESNIER-BOECK.

a. Gegevens uit de literatuur.

TABEL 16. De haemagglutinatie-reactie bij patienten lijdende aan de ziekte van Besnier-Boeck.

Auteurs	Aantal patiën- ten	Haemagglutinatie-reactie	
		+	-
Smith en Scott	11 ^x	7	4
Rothbard et. al.	8	0	8
Ulstrup	19 ^x	16	3
Ødegaard	19 ^x	5	14
Flemming et. al.	22		
	20 ^x	10	10
	2 ^{xx}	2	0
Verstraeten	1	1	0

x tuberculine-ongevoelig.

xx tuberculine-gevoelig.

Smith en Scott onderzochten 11 patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck, welke ongevoelig waren voor tuberculine (100 T.U.). Zeven hiervan hadden een positieve haemagglutinatietiter in dezelfde titersterkte als bij lijders aan tuberculose en vier patiënten hadden negatieve reacties. Bij 9 patiënten waren kort voor het verrichten van de haemagglutinatie-reacties, Mantoux-reacties verricht. Van de twee patiënten waarbij dit niet was geschied had een patiënt een positieve haemagglutinatie-reactie. Een patiënt had een hoge haemagglutinatietiter in het stadium van ernstig ziek zijn. Een jaar later, nadat de acute verschijnselen waren verdwenen, was de haemagglutinatie negatief geworden.

Rothbard et. al. vonden bij 8 patiënten lijdende aan de ziekte van Besnier-Boeck negatieve haemagglutinatie-reacties.

Ulstrup vond bij 19 patiënten, welke allen voor tuberculine ongevoelig waren er 16 welke een positieve haemagglutinatie-test hadden.

Ødegaard onderzocht 19 patiënten en nam bij 5 een positieve haemagglutinatie-reactie waar. Alle patiënten hadden een negatieve reactie van von Pirquet. De titersterkte van de haemagglutinatie-reactie lag beneden die welke bij lijders aan tuberculose was waargenomen.

Flemming et. al. onderzochten 22 patiënten. Hiervan waren er 17 in een actieve fase, twee hiervan waren voor tuberculine gevoelig. Deze en zes andere patiënten uit deze groep, vertoonden een positieve haemagglutinatietiter. Vijf patiënten hadden een inactieve vorm van de ziekte van Besnier-Boeck en waren voor

tuberculine ongevoelig. Vier hadden een positieve haemagglutinatie-reactie.

Verstraeten verrichtte de haemagglutinatie-reactie bij 1 patiënt met de ziekte van Besnier-Boeck. De reactie verliep positief.

b. Bij een groep van onze eigen patiënten.

Prof. Dr A. B. F. A. Pondman was zo vriendelijk op ons verzoek toestemming te verlenen om in het Bacteriologisch-Serologisch Laboratorium de haemagglutinatie-reacties te doen verrichten op het serum van patiënten lijdende aan de ziekte van Besnier-Boeck.

1) GEVOLGDE TECHNIEK.

In navolging van Smith en Scott werd ter sensibilisering der erythrocyten als antigeen gekozen het 4 x geconcentreerde oud-tuberculine van Lederle. De reactie werd verricht met schapenerythrocyten.

De techniek van Smith en Scott werd gevolgd met kleine wijzigingen bij het verwijderen der heterophiele antilichamen uit de patiënten-sera.

Aan 2 cm³ van het te onderzoeken mensenserum, dat tot de helft verdund was met gebufferde zoutoplossing (ph = 7.2), werd ongeveer 0.3 cm³ gecentrifugeerde schapenerythrocyten toegevoegd (packed cells). Dit mengsel werd na goed doorenmengen 20 minuten in een waterbad van 37 graden geplaatst, waarna nogmaals 0.1 cm³ schapenerythrocyten werd toegevoegd.

Na een tweede adsorptie gedurende 10 minuten bij 37 graden, werden de buisjes in een centrifuge geplaatst. Na centrifugatie werd de bovenstaande vloeistof afgeheveld; bij onderzoek bleek dan meestal, dat de eventueel aanwezig geweest zijnde heterophiele antilichamen geheel waren verdwenen door adsorptie aan de schapenerythrocyten. Was dit niet het geval, dan werd de adsorptie nogmaals met verse erythrocyten herhaald.

2) RESULTATEN (Tabel 17).

TABEL 17. Haemagglutinatie-reactie van Middlebrook-Dubos bij 29 patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck.

Aantal		Haemagglutinatie-reactie pos./titer 1/8 en >	negatief
Actieve vorm	4 ^x	0	4
	5 _{1xx}	0	1
Inactieve vorm	24 ^x	5	19
Na BCG.-vaccinatie.	4	1	3

x = tuberculine ongevoelig

xx = tuberculine gevoelig

Bij 29 patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck werd de haemagglutinatie-reactie verricht.

Vijf hiervan hadden een actieve vorm van de aandoening, waar-

van er een voor tuberculine gevoelig was (10 T.U.). Alle patiënten hadden een negatieve haemagglutinatie-reactie.

Bij 24 patiënten met een inactieve vorm van de ziekte van Besnier-Boeck was 5 x een positieve haemagglutinatietiter aanwezig (titersterkte 1/8, 1/16, (2 x) 1/32, 1/256). Deze patiënten waren voor tuberculine ongevoelig (10 T.U.).

Na BCG-vaccinatie bij vier patiënten bleven deze voor tuberculine ongevoelig. Een patiënt verkreeg een positieve haemagglutinatie-reactie (titer 1/8).

Korte samenvatting:

In de literatuur wordt het verloop van de haemagglutinatie-reactie bij de ziekte van Besnier-Boeck beschreven. Wij hebben 80 gevallen uit de literatuur verzameld. De uitkomsten van de verschillende onderzoekers lopen zeer uiteen.

Prof. Pondman was daarom zo vriendelijk ons in de gelegenheid te stellen bij een aantal van onze Boeck-patiënten nog eens de haemagglutinatie-reactie in zijn laboratorium te doen verrichten. In het onderzoek dat verricht werd bij een groep van 29 Boeck-patiënten, vonden wij 5 x een positieve reactie. Dit is in 17 % der gevallen. Als titersterkte voor een positieve reactie werd aangenomen 1/8 en hoger.

Pondman vond bij 43 studenten met een negatieve tuberculine-reactie in 16 % der gevallen de haemagglutinatie-reactie positief. Wij vonden dus geen verschil wat betreft percentages positieve reacties in de groep van onze patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck en de groep van tuberculine-negatieve studenten van Pondman.

§ 8 DISCUSSIE.

Het aantal positieve reacties bij de ziekte van Besnier-Boeck wordt door de verschillende onderzoekers zeer verschillend opgegeven. Het hoogste aantal positieve reacties vindt Ulstrup (16 op 19). Het laagste aantal Rothbard et. al. (geen positieve reacties op 8 gevallen). De overige opgaven liggen tussen deze twee uitersten.

Uiteraard zijn ook hier de getallen van de verschillende onderzoekers niet goed vergelijkbaar. De titersterkte voor positieve reacties worden verschillend beoordeeld. Smith en Scott nemen zeer lage titersterkten aan voor een positieve reactie, Flemming et. al. spreken pas van een positieve reactie bij een titersterkte van 1/16 en hoger.

De gevolgde techniek is niet steeds dezelfde. Rothbard et. al. die geen positieve reacties zagen bij patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck, vonden bij 110 gezonde personen evenmin positieve reacties.

De haemagglutinatie-reactie verricht bij 29 van onze eigen patiënten lijdende aan de ziekte van Besnier-Boeck, leverde 5 x een positieve reactie op. Dit is in 17 % der gevallen. Als titersterkte voor positieve reacties namen wij aan 1/8 en hoger.

Van onze patiënten hadden er 5 een actieve vorm van de ziekte. In deze groep vonden wij geen enkele positieve reactie. Flemming et. al. daarentegen vonden in 17 actieve gevallen 8 x een positieve reactie.

Pondman vond bij 43 studenten met een negatieve tuberculine-reactie 7 x een positieve haemagglutinatie-reactie. Dit is in 16 % der gevallen. Dit getal komt overeen met ons percentage positieve reacties bij Boeck-patienten (17 %). Op een groep van 66 patiënten lijdende aan tuberculose werd in 74 % der gevallen een positieve haemagglutinatie gevonden. Daar het onderzoek van onze patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck geschiedde in hetzelfde laboratorium onder gebruikmaking van dezelfde techniek en met dezelfde titersterkten als maatstaven voor een positieve reactie, menen wij dat deze groep van studenten en lijdens aan tuberculose als controle-groepen gebruikt mogen worden.

Hieruit valt te concluderen dat de groep van patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck bij ons onderzoek betrokken zich t.o.v. de haemagglutinatie-reactie gedroegen als een groep van gezonde tuberculine-negatieve studenten.

§ 9 CONCLUSIES.

1. De haemagglutinatie-reactie van Middlebrook-Dubos verloopt bij patiënten lijdende aan tuberculose in een significant hoger percentage positief dan in controle-groepen.
2. De betrekkelijk grote frequentie van positieve reacties bij gezonden, vormt de reden, waarom het gebruik van de haemagglutinatie-reactie in zijn huidige vorm, als diagnosticum weinig aantrekkelijk is.
3. De reactie van Middlebrook-Dubos heeft geen betekenis voor het beoordelen van de prognose tijdens het verloop van een tuberculeus proces.
4. De betekenis van de reactie, voor het bestuderen van de antigen-eigenschappen van de verschillende fracties uit de tuberkel-bacil en haar cultuur-filtraten, is belangrijk.
5. Bij een groep van onze eigen patiënten lijdende aan de ziekte van Besnier-Boeck waren de resultaten van de haemagglutinatie-reactie overeenkomstig met die welke verkregen werden bij een controle-groep van tuberculine-ongevoelige studenten.

LITERATUUR

1. *J. Adcock et. al.* The Middlebrook haemagglutination test for tuberculosis. An evaluation in normal subjects and in patients with tuberculosis. *J. Lab. clin. Med.* 38:736-741:1951.
2. *G. Avezzu en R. Morsica* The Middlebrook and Dubos haemagglutination test in the diagnosis of osteo-articular and urogenital tuberculosis. *Arch. Pat. klin.* 1951:6-2:341.
3. *A. Belz et. al.* La reaction d'haemagglutination type Middlebrook-Dubos dans les tuberculoses oculaires. *Ann. Ocul.* 184, 586-605, 1951.
4. *S. V. Boyden* The adsorption of proteins on erythrocytes treated with tannic acid and subsequent haemagglutination by antiprotein sera. *J. exp. Med.* 93: 106-120:1951.
5. *S. V. Boyden en E. Sorkin* Serological activity of various fractions of culture filtrates of the tubercle bacillus. Ciba Foundation symposium in Experimental tuberculosis. 1955:144-163.
6. *A. Bret* La reaction de Middlebrook-Dubos en gynaecologie. *Rev. France Gynaec.* 1955:50/5-6:181:187.
7. *H. Brodhage* Die haemagglutinationsreaktion nach Middlebrook und Dubos zur Diagnose der Tuberculose. *Acta Davos.* 4:1-14:1951.
8. *J. W. Fleming, E. H. Runyon, M. Martin en Lemmings* An evaluation of the haemagglutination test for tuberculosis. *The American Journal of Medicine.* 1951:vol. 10:704.
9. *Gernez-Rieux en A. Tacquet* Les reactions d'haemagglutination et d'hémolyse conditionnée dans la tuberculose. *Progres de l'exploration de la Tuberculose.* 5: 1952:66-152.
10. *Gerstl et. al.* Non specific reactions with the Middlebrook-Dubos test for tuberculosis antibodies. *J. Lab. clin. Med.* 1954:44:443.
11. *W. Hall* Antibodies in tuberculosis. *Bull of the Univ. of Minnesota Hospital.* 22:557-567:1951.
12. *C. N. Iland en D. B. Peacock* The serology of tubercle polysaccharides, Ciba foundation symposium on experimental tuberculosis. 1955:163-173.
13. *E. V. Keogh, E. A. North en M. F. Warburton* Adsorption of bacterial polysaccharides to erythrocytes. *Nature, Lond.* 161:687:1948.

14. *G. Lapponi en A. Lalle* La reaction d'hémagglutination de Middlebrook-Dubos pour le diagnostic de la tuberculose. International Congress of clinical pathology, London, Juli 1951.
15. *L. Lucentini en M. Boisvert* Contribution a l'étude des reactions d'hémagglutination conditionnée dans la tuberculose. Ann. Inst. Pasteur. 82:55-65:1952.
16. *E. Maillard en Gagliardo* A new serologic test for tuberculosis. Amer. Rev. Tuberc. 64:675-681:1951.
17. *Marco Ahuir* Rev. clin. esp. 1952:45 (399-403)
18. *T. Matuhasi* Studies on atypical antibodies in the hemagglutinationtest of tuberculosis. Tokyo J. Med. Sci. 1955:63/2 (59-74)
Japanese tekst. Referaat Excerpta Medica.
19. *G. Middlebrook* A hemolytic modification of the hemagglutination-test for antibodies against tubercle bacillus antigens. J. clin. Invest. 1950:29:1480.
20. *G. Middlebrook en R. J. Dubos* Specific serum agglutination of erythrocytes sensitized with extracts of tubercle bacilli. J. Exper. Med. 1948:88:521.
21. *K. Ødegaard* Middlebrooks reaction in Boeck's sarcoid, lupus vulgaris and erythematodes. Acta Dermato-Venereologica. 1953:33:181.
22. *A. B. F. Pondman, A. H. H. Cohen en S. Santema* De haemagglutinatie-reactie bij tuberculose. N.T. v. Geneeskunde. 1951:44:3245.
23. *S. Rothbard, A. S. Dooneief en K. E. Hite* Practical application of hemagglutination-reaction in tuberculosis. Proc. Soc. Exper. Biol. and Med. 1950:74:72.
24. *B. Schwartz et. al.* A comparative evaluation of the hemagglutination test and the hemolytic modification in tuberculosis. The American Review of Tuberculosis. 1952:66:594.
25. *N. Scott en D. Smith* A simple modification of the Middlebrook and Dubos hemagglutination test for serum antibodies to products of tubercle bacilli. J. Lab. clin. Med. 1950:35:303.
26. *O. Sievers et. al.* Serumreaktion med farblodkroppar sensibiliserade med polysaccharid-extrakt av tuberkelbakterier. Nord. Med. 1950:43:667.
27. *D. T. Smith en N. B. Scott* Clinical interpretation of the Middlebrook-Dubos hemagglutination test. The American Rev. of tuberculosis. 1950:62:121.

28. *R. Sohler,
I. Trimberger en
J. Juillard* Réaction d'héماغglutination type Dubos-Middlebrook réalisée avec une tuberculine purifiée; résultats obtenus.
An. Inst. Pasteur, 1950:78:283.
29. *A. J. C. Ulstrup* Antistoffer mot tuberkelbacterien ved lymfogra-nulomatosis benigna.
Nordisk Medicin, 1951:45:598.
30. *J. M. Verstraeten* Premiers résultats de la réaction d'héماغglutination de Middlebrook-Dubos, Acta tuberc. belg.
1951:42:594.

ALGEHELE SAMENVATTING

In dit proefschrift werden literatuurgegevens van enkele huid- en serum-reacties bij de ziekte van Besnier-Boeck en tuberculose besproken. De resultaten van het eigen onderzoek werden medegedeeld en met die uit de literatuur vergeleken.

Achtereenvolgens kwamen tersprake de tuberculine-reactie, de tuberculine-neutralisatie-test, de BCG-vaccinatie, de lepromine-test, de Kveim-test en de haemagglutinatie-reactie volgens Middlebrook-Dubos.

Als tuberculine-reactie gebruikten wij de reactie van Mantoux, uitgevoerd met oud tuberculine (R.I.V. Utrecht). Oud tuberculine is een product, afkomstig van de voedingsbodem van tuberkel-bacillen, hun uitscheidingsproducten, producten afkomstig van autolyse en van vernietiging van de tuberkel-bacillen door koken. Tuberculoproteïnen zijn verantwoordelijk voor de tuberculine-reactie. Hierop ontstaat een reactie welke na 72 uur wordt afgelezen en in mm. infiltraat wordt uitgedrukt. Het is een vertraagde vorm van allergie, welke men ook wel noemt „tuberculin type“, die mogelijk berust op cellulaire allergie; circulerende antilichamen zijn niet verantwoordelijk.

Iedere onderzoeker vermeldt weer het merkwaardige feit dat men met behulp van tuberculine-injecties geen gevoeligheid van de huid in de zin van een tuberculine-reactie kan verwekken. Hier-voor zijn nodig of zuurvaste staafjes (dode of levende) of, zoals door Raffel is aangetoond, een was van de tuberkel-bacil + tuberculine. Deze vertraagde vorm van allergie, de tuberculine-reactie, wordt volgens Miles bij caviae ingeleid door een directe fase. Deze directe vorm van reageren zou worden veroorzaakt door een antilichaam tegen de van de tuberkel-bacil afkomstige polysacchariden. Deze fase kan volgens Pepys een hulpmechanisme vormen voor het tot standkomen van de cellulaire vorm van allergie n.l. doordat vasodilatatie respectievelijk doordat verhoogde permeabiliteit verhoogde celaanvoer uit het circulerende bloed bevordert. Bij een positief verloop van de tuberculine-reactie zijn het de mononucleaire cellen die het karakteristieke infiltraat vormen dat men terplaatse van de tuberculine-applicatie in de huid waarneemt. Het zijn vooral deze mononucleaire cellen waaraan, naar men veronderstelt, de antistoffen gebonden zijn.

Met overdracht van mononucleaire cellen is het bij proefdieren (Chase) en bij mensen (Lawrence) met een negatieve tuberculine-reactie gelukt een tijdelijke algehele sensibilisatie op te wekken, waarbij de tuberculine-reactie van de huid positief werd.

Lawrence nam proeven met verscheurde cellen en deze brachten

ook de tuberculine-gevoeligheid over. Hij meent dat een „transfer-factor“ (antilichaam?) hiervoor zorgt welke zich aan de mononucleaire cellen van de donor hecht waardoor deze gesensibiliseerd zou worden.

Cole en Favour menen caviae passief te kunnen sensibiliseren door middel van een factor IV-10 van alfa-globuline, welke factor afkomstig is uit het serum van tuberculine-gevoelige caviae. De donor-dieren moeten, willen zij hiervoor geschikt zijn, enkele dagen van tevoren met tuberculine in contact zijn geweest.

Toestanden waarbij het aantal mononucleaire cellen sterk terugloopt b.v. de leucopenie na specifieke (tuberculine-) desensibilisatie en na behandeling met A.C.T.H. en X-bestraling, heeft een afzwakking van de tuberculine-reactie tot gevolg.

Het tuberculine moet terplaatse van de applicatie gebonden worden wil het niet met het weefsel-vocht worden afgevoerd. Met Keuning kan men zich voorstellen dat deze binding met een factor van het bindweefsel kan geschieden. Door stoffen welke een verhoogde weefsel-doorstroming veroorzaken (histamine) of toestanden waarbij deze aanwezig is (blootstellen aan zonlicht, hydraemie door zwangerschap) kan men een versnelde afvoer van het tuberculine verkrijgen en de reactie hierop doen verminderen of opheffen. Stoffen die terplaatse van de injectie een vasoconstrictie geven (adrenaline) kunnen een versterkte tuberculine-reactie door vertraagde afvoer van het aangebrachte tuberculine veroorzaken.

Wij hebben getracht ons een voorstelling te vormen over het mechanisme van de tuberculine-reactie, in de hoop hierdoor over het negatieve verloop van deze reactie bij de patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck, inzicht te verkrijgen.

Bij patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck is in 60-70 % een negatieve tuberculine-reactie aanwezig. Als eerste bracht J. Jadassohn dit in verband met tuberculose en sprak van een positief anergische vorm van deze infectie-ziekte. Het zou een vorm zijn waarbij de „akker“ een hoge immuniteit zou bezitten gepaard gaande met een negatieve tuberculine-reactie. Daarna zijn voor het frequente negatieve verloop van de tuberculine-reactie verschillende theorieën opgesteld.

a) Het mycobacterium tuberculosis heeft niets met de ziekte van Besnier-Boeck te maken (o.a. Turiaf, Danbolt). Onverklaarbaar blijft dan het feit dat er nogal wat patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck voordien positieve tuberculine-reacties vertoonden of Röntgenologisch aantoonbare verkalkte (primaire) tuberculose.

b) Het tuberculine wordt onvoldoende terplaatse gebonden.

Seeberg verkreeg met een depot-tuberculine-test bij 6 van de 8 tuberculine-ongevoelige patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck wel positieve tuberculine-reacties. Dit is door James en Pepys evenals door Citron bevestigd.

Pyke en Scadding namen positieve tuberculine-reacties waar bij met cortisone behandelde patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck, welke voordien negatief reageerden. Dit schrijft Citron

toe aan de remming van de tuberculine-afvoer onder invloed van het cortisone. Hier rijst dus de vraag naar de wijze waarop het tuberculine gebonden wordt. Men denkt dan tevens aan een mogelijke invloed van de vroege fase van de tuberculine-reactie zoals die door Miles is beschreven.

Met behulp van methyleen-blauw, Evans-blue en pontamine-blauw waren wij niet in staat een directe vorm van reageren bij de tuberculine-reactie bij mensen aan te tonen. Bij tuberculine-ongevoelige patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck zagen wij in de blauw-proeven geen verschil met tuberculine-gevoelige en -ongevoelige normale personen. Op grond hiervan lijkt het onwaarschijnlijk dat de tuberculine-reactie bij de Besnier-Boeck-patiënt door een stoornis (versterkte reactie — versterkte afvoer) in de vroege fase (Miles) een negatief beloop zou nemen.

Of een ontbrekende reactie in de zin van Miles bij de patiënt met de ziekte van Besnier-Boeck eveneens zou kunnen leiden tot een versnelde afvoer van het tuberculine en daardoor tot een negatieve reactie, is theoretisch mogelijk. Men vindt hiervoor enige steun in de waarnemingen van Löfgren bij zijn proeven met radio-actief BCG.

Onze blauw-proeven bij tuberculine-gevoelige personen wijzen niet in deze richting.

- c) Martenstein stelt bepaalde stoffen verantwoordelijk voor de negatieve tuberculine-reactie en noemt deze „anticutine”. Wylie geeft er de naam „tuberculoclastin” aan. Wij menen met behulp van de proeven van methyleen-blauw, Evans-blue en pontamine-blauw aangetoond te hebben, dat de versnelde afvoer van weefselvocht gepaard gaande met een versnelde afvoer van het tuberculine verantwoordelijk kan zijn voor het optreden van verzwakte tuberculine-reacties en men geen anticutine-factor hiervoor nodig heeft.
- d) Blokkering van subfactor (IV-10) alfa-globuline door gamma-globuline. In de opvatting van Cole en Favour zou dit leiden tot een versterkte vroege fase (Miles) van de tuberculine-reactie met een hiermede gepaard gaande versnelde afvoer van het tuberculine.
- e) Het tuberculine op zichzelf is geen volwaardig antigeen. Completering zou kunnen uitblijven (Leitner).
- f) De cellulaire vorm van allergie bij deze patiënten ontbreekt (Friou, Sones en Israël, Citron). Dit geldt zowel voor tuberculose als voor andere infectie-ziekten welke gepaard gaan met een vertraagde vorm van allergie. Israël et. al. waren in staat met behulp van cellen, afkomstig van tuberculine-gevoelige personen, bij patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck positieve tuberculine-reacties te verwekken. Cellen van ongevoelige Besnier-Boeck-patiënten beïnvloeden de tuberculine-reacties bij tuberculine-gevoelige personen niet. De cellulaire mononucleaire factor (transfer-factor) ontbreekt klaarblijkelijk bij de patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck.

Wij menen ons bij de opvatting van Israël et. al. aan te moeten sluiten welke menen, dat, bij de ziekte van Besnier-Boeck, de patiënt een stoornis heeft in zijn vermogen tot vertraagd allergisch reageren. Het gevolg hiervan is een uitblijven van positieve tuberculine-reacties. Het probleem is hiermede echter niet opgelost.

Bij de tuberculine-neutralisatie-test wordt serum van de te onderzoeken patiënt (donor) met tuberculine gemengd. Dit mengsel wordt gebruikt om i.c. huidreacties te verrichten bij test-personen (receptores). Deze reacties vergelijkt men met een bij hen (receptores) uitgevoerde controle-tuberculine-reactie. De tuberculine-neutralisatie-test is uitvoerbaar met een vers serum-tuberculine-mengsel. Zij wordt ook verricht na staan van het mengsel in de broedstoof. Met behulp van deze methodiek door Pickert en Löwenstein aangegeven, zouden stoffen worden aangetoond in het serum van met tuberculine behandelde lijders aan tuberculose, die de werking van het tuberculine zouden verzwakken of zelfs opheffen, de zgn. „anticutinen”.

Fellner toonde in het blaarvocht van sterk positief verlopende Mantoux-reacties stoffen aan die de tuberculine-reactie versterkten en noemde deze „procutinen”.

Volgens W. Jadassohn en Martenstein komen beide stoffen voor in het serum van tuberculine-gevoelige personen. De anticutinen zouden thermolabiel en de procutinen thermostabiel zijn.

De tuberculine-neutralisatie-test is men gaan gebruiken om de tuberculeuze aetiologie van bepaalde aandoeningen o.a. de ziekte van Besnier-Boeck aan te tonen. Wells en Wylie zien vooral neutralisatie optreden met het serum afkomstig van patiënten met een actieve vorm van de ziekte van Besnier-Boeck. Anderen (Leitner, Rubin en Pinner) namen dit slechts bij uitzondering waar. In het serum van normale tuberculine-gevoelige personen vond Singer in 90 % en Pinner et. al. in 3 % anticutinen.

In ons eigen onderzoek kwamen in de tuberculine-neutralisatie-testen, uitgevoerd met het serum van patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck, wel meer verzwakte reacties voor vergeleken met die van normale personen. Daar in de blauw-proeven, uitgevoerd met gamma-globuline een verhoogde permeabiliteit aantoonbaar is, zou dit kunnen berusten op een versnelde tuberculine-afvoer en dus op een niet specifiek effect.

De i.c. BCG-vaccinatie bij tuberculine-ongevoelige personen geeft een late reactie. De reactie na BCG-vaccinatie treedt bij tuberculine-gevoelige personen vroeg op. Hierbij worden de geïnjecteerde tuberkel-bacillen aan de plaats gebonden en uitgestoten. Epitheloïd-cellen-tuberkels kunnen hierbij ontstaan evenals bij de late reactie 6 weken na injectie. BCG-vaccinatie verloopt bij de patiënt met de ziekte van Besnier-Boeck in wezen op dezelfde wijze.

Volgens Sulzberger zou het macroscopisch beloop afwijkend zijn door een versnelde vorming van een knobbeltje (na ± 5

dagen) bij patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck. In ons eigen onderzoek werd dit verschijnsel waargenomen, doch het trad ook op in 35 % bij normale tuberculine-negatieve personen.

Daar bij normale tuberculine-ongevoelige personen, 6 weken na de i.c. levende BCG-vaccinatie de injectie-plaats doorgaans een sarcoïde structuur bezit, onderscheiden deze personen zich hierdoor niet van de patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck. Vooral Bjørnstadt wees er terecht op dat de tijd die verstrijkt tussen de injectie en het verrichten van histologisch onderzoek van de injectie-plaats, uitermate belangrijk is voor het histologisch beeld dat men verkrijgt. Hoe later men dit onderzoek verricht, des te meer kans zal men hebben een sarcoïde structuur te vinden. Wel is het opvallend dat 8 weken na de BCG-vaccinatie veel minder patiënten voor tuberculine gevoelig zijn geworden en zij eerder, vergeleken met normale personen, de tuberculine-allergie verliezen. In ons eigen onderzoek naar de aanwezigheid van zuurvaste staafjes in de injectie-plaats 6 weken na de BCG-vaccinatie, werd geen verschil in frequentie van voorkomen gevonden tussen patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck en normale personen met negatieve tuberculine-reacties. Er werd geen enkel kenmerkend verschil in het beloop in de BCG-vaccinatie bij de patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck en normale personen vastgesteld, wel in de frequentie van positief worden van de daarop volgende tuberculine-reactie.

De late of Mitsudareactie van de lepromine-test zou bij lepra de weerstand tegen het mycobacterium leprae Hansen aangeven, de vroege of Fernandez-reactie de allergie. Zouden alle patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck door het mycobacterium tuberculosis als infectieus aetiologisch agens veroorzaakt zijn, dan zou men misschien op basis van de para-allergie ook een positieve Mitsuda-reactie mogen verwachten. Dit geldt ook als de Mitsuda-reactie een voor lepra niet kenmerkende reactie zou zijn, waarbij het adjuvans-principe een rol kan spelen.

De lepromine-testen verliepen in ons eigen onderzoek parallel met de tuberculine-reacties, zowel bij tuberculine-gevoelige normale personen als bij lijders aan tuberculose. Bij de tuberculine-ongevoelige normale personen waren er twee die een positieve Mitsuda-reactie vertoonden. Deze personen hadden BCG-vaccinatie gehad, doch waren niet voor tuberculine gevoelig geworden. Van een positieve late of Mitsuda-reactie bij de patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck welke voor tuberculine ongevoelig waren, was niets te zien. Bij de tuberculine-gevoelige Besnier-Boeck-patiënten werden ook positieve lepromine-reacties gevonden (Fernandez of Mitsuda). Wij hebben na het verrichten van lepromine-testen bij tuberculine-ongevoelige gezonde personen en patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck geen omslag van de tuberculine-reactie waargenomen. Wel werd omslag van de lepromine-test na BCG-vaccinatie gezien.

De Kveim-test zou diagnostische waarde bezitten bij de actieve

doch niet bij de inactieve vorm van de ziekte van Besnier-Boeck. De test wordt uitgevoerd als een i.c. huidreactie. De te injecteren weefsel-suspensie wordt bereid uit lymphomen en ander weefsel dat afkomstig is van een patiënt met de ziekte van Besnier-Boeck en dat de voor deze ziekte kenmerkende histologische structuur vertoont. De moeilijkheden verbonden aan het bereiden van een actieve weefsel-suspensie zijn vele. Men moet lymphomen verkrijgen van een onbehandelde patiënt in een actieve fase van de ziekte. Cavia-proeven hiervan moeten negatief zijn. Controle-testen bij gezonde normale personen en vooral bij lijders aan longtuberculose moeten worden verricht alvorens men in de kliniek deze weefsel-suspensie kan gebruiken. Vervolgens moet men maar afwachten of men bij patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck positief verlopende testen verkrijgt. Het blijkt dat deze vooral bij patiënten met een actieve vorm van de aandoening voorkomen.

In ons eigen onderzoek werd de weefsel-suspensie voor het verrichten van de Kveim-test bereid uit lymphomen die aan de bovengenoemde eisen voldeden. De controle-testen welke werden verricht bij normale personen en lijders aan tuberculose verliepen negatief. Bij het beoordelen van de Kveim-test eisten wij evenals b.v. Rogers en Haserick histologisch onderzoek van de injectieplaats. Het mechanisme van de reactie zou kunnen berusten op een „isomorph-Reizeffect” of op allergie. Kveim en Danbolt wijzen het eerste af daar bij controle-proeven volgens hen practisch geen positieve Kveim-testen optraden. Putkonen haalt Pagel aan die bij allergische reacties dezelfde histologische veranderingen beschreef als bij de positieve Kveim-test voorkomen. Nelson combineert beide mogelijkheden. Als reactie op de ingespoten weefsel-suspensie (exogeen antigeen) ontwikkelt zich een endogeen-antigeen. Hier-teen worden antilichamen gevormd. Het gevolg is een antigeen-antilichaam-reactie. Een werkzame weefsel-suspensie moet vaste deeltjes bevatten. Deze worden terplaatse afgebroken en hiervoor is tijd nodig. Dit zou een verklaring kunnen zijn voor het laat optreden van de reactie. Rogers en Haserick menen dat het ziekte-verwekkende agens in de weefsel-suspensie aanwezig, terplaatse van de injectie via een antigeen-antilichaam-reactie zou worden gebonden. Zoals uit onze resultaten blijkt hadden wij slechts weinig actieve suspensies. Bij de actieve vorm van de ziekte van Besnier-Boeck traden meer positieve (45 %) Kveim-testen op dan bij de inactieve (20 %). Volgens de literatuur vond Nelson in 73 % en Rogers en Haserick in 96 % positieve Kveim-testen bij de actieve vorm van de aandoening en geen enkele positieve bij de inactieve vorm. Wij zagen geen verband met de tuberculine-reactie. Geen van onze patiënten had waarneembare huidafwijkingen.

De haemagglutinatie van Middlebrook-Dubos werd bij 29 patiënten verricht. Het bleek dat de uitkomsten overeen kwamen met een controle-groep van tuberculine-negatieve studenten (Pondman et. al.). In 19 % der gevallen was de reactie positief. Titer 1/8 en hoger. Bij tuberculose worden in de literatuur belangrijk hogere

percentages positieve reacties gevonden. Het grootste bezwaar dat men tegen de haemagglutinatie-reactie als diagnosticum bij tuberculose aanvoert is het optreden van hoge percentages positieve reacties bij niet tuberculeuze patiënten. Er zijn verschillende variaties op de haemagglutinatieve reacties beschreven, waaronder de haemolytische modificatie de voornaamste is. Ook bij toepassing van deze variant-reacties blijft het probleem van de ten onrechte positieve reacties aanwezig. De vraag welke antigenen verantwoordelijk zijn voor de agglutinatie der erythrocyten is een omstreden punt. Er zijn aanwijzingen dat polysaccharide fracties van de tuberkel-bacil of haar cultuur-filtraten hiervoor verantwoordelijk zijn. Van bijzonder belang is de haemagglutinatie-reactie voor het bestuderen van de antigene structuur van de diverse fracties verkregen uit de tuberkel-bacil en haar cultuur-filtraten.

De waarde van de beschreven reacties voor de diagnostiek van de ziekte van Besnier-Boeck zullen wij bespreken.

De tuberculine-neutralisatie-test is geen methodiek om de tuberculeuze aetiologie van een ziekte aan te tonen of uit te sluiten. Wij menen uit de resultaten van onze proeven te mogen afleiden dat de verzwakking tot opheffing van de tuberculine-reactie van sommige sera het gevolg is van vasodilatatie en verhoogde permeabiliteit. Hierop wijzen de proeven met isotonisch gammaglobuline. Dit heeft in de eerste minuten na de tuberculine-injectie als gevolg een verhoogde weefselstroom met een versnelde afvoer van de tuberculine. De praktische betekenis van de tuberculine-neutralisatie-test is echter gering.

Het verloop van de BCG-vaccinatie is bij de ziekte van Besnier-Boeck niet anders dan bij normale personen. Dit geldt eveneens voor het histologische beeld van de reactie-papel. Wel is van diagnostische betekenis het feit dat bij de patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck slechts in een laag percentage der gevallen een omslag van de tuberculine-reactie plaats heeft. In 17,3 % van onze patiëntenreeks kwam dit voor. Deze allergie bleek bij hen snel te verdwijnen. Na een jaar waren alle patiënten weer ongevoelig voor tuberculine. Men dient echter wel te bedenken dat niet alle normale personen na BCG-vaccinatie voor tuberculine gevoelig worden.

De lepromine-test heeft voor de diagnostiek van de ziekte van Besnier-Boeck geen betekenis.

Van de beschreven reacties blijkt de Kveim-test de grootste diagnostische waarde te bezitten. De voornaamste reden hiervoor vormt de waarneming dat bij de Kveim-test slechts sporadisch ten onrechte positieve reacties voorkomen. De negatieve Kveim-test heeft geen betekenis. Voor het klinisch gebruik heeft de Kveim-test in ons onderzoek niet aan de verwachtingen voldaan. Bij aandoeningen welke men bijvoorbeeld bij bevolkingsonderzoek zal aantreffen bij personen die weinig of geen klachten bezitten en men een inactieve vorm van de ziekte van Besnier-Boeck vermoedt, zou de Kveim-test een waardevolle aanwinst kunnen zijn. In deze gevallen

is de kans op een negatief beloop helaas juist groot. Het verplicht stellen van histologisch onderzoek 6 weken na de i.c. weefsel-suspensie-injectie van de injectie-plaats is een bezwaar dat men tegen de Kveim-test kan men ten onrechte positieve reacties niet vermijden. De diagnostische waarde van de Kveim-test is dus beperkt. In ons onderzoek vonden wij positieve reacties in 45 % bij patiënten met een actieve vorm en in 20 % met inactieve vorm van de aandoening.

Voor de diagnose van de ziekte van Besnier-Boeck heeft de negatieve haemagglutinatie-reactie volgens Middlebrook-Dubos een beperkte betekenis. Bij tuberculose komt de reactie in een veel hoger percentage (50-80 %) positief voor dan bij normale personen. In ons onderzoek verliep deze reactie bij patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck in een zelfde percentage positief als bij tuberculine-ongevoelige normale personen (17 %).

Opvallend is een bepaalde eenvormigheid in het verloop van de Kveim-test, BCG-vaccinatie en lepromine-test, wanneer althans wat de Kveim- en lepromine-test betreft deze reacties een positief verloop hebben.

Bij deze drie reacties valt het meest in het oog, dat er zes weken na de i.c. injectie van de weefsel-suspensie (Kveim-test) en bacillen-suspensie (BCG-vaccinatie en lepromine) op de injectie-plaats een papeltje aanwezig is, dat kan ulcereren. Alle drie vertonen meestal bij histologisch onderzoek een sarcoïde structuur. Hiernaast kan de Kveim-test een vroege in de eerste dagen optredende reactie vertonen: Williams en Nickerson, Putkonen, Silzbach en Ehrlich. De lepromine-test kan de vroege of Fernandez-reactie vertonen.

Bij de BCG-vaccinatie bij personen met positieve tuberculine-reactie treedt het Koch'se phenomeen op. Dit is een versnelde late reactie. Een echte vroege reactie treedt bij BCG-entingen niet op. De vroege lepromine-test (Fernandez-reactie) zou een allergische reactie zijn, veroorzaakt door de proteïnen van het mycobacterium leprae. Het analogon hiervan vindt men bij de tuberkel-bacil in het tuberculine.

Een verdieping van het inzicht voor het vraagstuk van de tuberculine-anergie bij de ziekte van Besnier-Boeck werd door eigen onderzoek niet verkregen.

Wel menen wij enige argumenten te kunnen aanvoeren tegen de theorie van J. Jadassohn. Deze verklaarde de negatieve tuberculine-reactie door een tuberculeuze genese van de ziekte te veronderstellen, waarbij de patiënt een hoge immuniteit zou bezitten met negatieve tuberculine-reacties. Het negatieve verloop van de Mitsuda-reactie evenals het ontbreken van verschil in verdwijnen van zuurvaste staafjes terplaatse van de BCG-vaccinatie en lepromine-test pleit hiertegen.

Daar wij bij de mens met de methodiek zoals door Miles aange-

geven geen vroege fase van de tuberculine-reactie hebben kunnen aantonen, ook niet bij tuberculeuze-ongevoelige patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck menen wij dat het niet omslaan van de tuberculine-reactie na BCG-vaccinatie gezocht moet worden in het onvermogen van de Besnier-Boeck-patiënt een vertraagde vorm van allergie te ontwikkelen.

Conclusies:

1. De tuberculine-neutralisatie verkregen met het serum van de patiënt lijdende aan de ziekte van Besnier-Boeck, berust waarschijnlijk op een aspecifiek effect. Dit zou met het verhoogde gamma-globuline-gehalte van het serum kunnen samenhangen.
2. Het percentage van de patiënten met de ziekte van Besnier-Boeck dat na i.c. BCG-vaccinatie voor tuberculine gevoelig wordt, is opvallend lager dan dit percentage bij normale tuberculine-ongevoelige personen.
3. Het onder 2 vermelde feit kan verklaard worden door het gemis van de patiënt lijdende aan de ziekte van Besnier-Boeck in het vermogen tot ontwikkelen van een vertraagde vorm van allergie (Israël et. al.).
4. De plaatselijke reactie op BCG-vaccin of lepromine onderscheidt zich bij de tuberculine-ongevoelige patiënt lijdende aan de ziekte van Besnier-Boeck niet van deze reactie bij tuberculine-ongevoelige normale personen.
5. Een positieve Kveim-test is een belangrijke steun bij het stellen van de diagnose ziekte van Besnier-Boeck.
Vele moeilijkheden zijn evenwel verbonden aan het bereiden van een actieve weefsel-suspensie benodigd voor het verrichten van deze test.
6. De resultaten van de reactie van Middlebrook-Dubos bij 29 patiënten lijdende aan de ziekte van Besnier-Boeck stemden overeen met die verkregen bij tuberculine-ongevoelige normale personen.

GENERAL SUMMARY

In this thesis the data from the literature of some skin and serum reactions in Besnier-Boeck's disease and tuberculosis are discussed. The results of personal investigations are communicated and compared with those from the literature. The tuberculin reaction, the tuberculin neutralization test, BCG vaccination, the lepromin test, the Kveim test and the haemagglutination reaction according to Middlebrook-Dubos are successively discussed.

As tuberculin reaction we used the Mantoux test carried out with old tuberculin (R.I.V. Utrecht). Old tuberculin is a product originating from the culture medium of tubercle bacilli, their excretion products, products resulting from autolysis and from the destruction of tubercle bacilli by boiling. Tuberculo-proteins are responsible for the tuberculin reaction. A reaction occurs which is read after 72 hours and which is expressed in mm. infiltration. It is a delayed form of allergy which is also called „tuberculin type“, and which is possibly based in cellular allergy; circulation antibodies are not responsible for it.

All investigators time and again report the remarkable fact that it is impossible to provoke — by means of tuberculin injections — cutaneous sensitivity in the sense of a tuberculin reaction. To effect this either acid-fast bacilli (dead or alive), or, as was shown by RAFFEL, a wax from tubercle bacilli + tuberculin, is necessary. According to MILES, this delayed form of allergy, the tuberculin reaction, is induced in guinea-pigs by a direct phase. It is assumed that this direct form of reacting is caused by an antibody against the polysaccharides produced by the tubercle bacilli.

According to PEPYS this phase may be an auxiliary mechanism in the accomplishment of the cellular form of allergy, viz., because vasodilatation or increased permeability, respectively, promote an increased supply of cells from the circulating blood. If the course of the tuberculin reaction is positive, the mononuclear cells form the characteristic infiltration which can be observed at the site of cutaneous tuberculin application. It is supposed that the antibodies are especially bound to these mononuclear cells.

By transmitting these mononuclear cells it has been possible to produce a temporary complete sensibilization (in which the tuberculin reaction of the skin became positive) in experimental animals (CHASE) and in human beings (LAWRENCE) with a negative tuberculin reaction. LAWRENCE performed experiments with disintegra-

ted cells and these also transferred the tuberculin sensitivity. In his opinion this is due to a "transfer-factor" (antibody?), which attaches itself to the mononuclear cells of the donor who would thus be sensitized.

COLE and FAVOUR think that guinea-pigs can be passively sensitized by means of a factor IV-10 of alpha globulin, obtained from the serum of tuberculin sensitive guinea-pigs. If donor animals are to be suitable for this, they should have been in contact with tuberculin some days before.

Conditions in which the number of mononuclear cells strongly diminish, e.g. leucopenia after specific (tuberculin) desensibilization and after treatment with A.C.T.H. and X-rays, lead to a weakening of the tuberculin reaction.

The tuberculin should be bound at the site of application, if it is not to be carried away with the tissue fluid. With KEUNING one may imagine that this binding may occur with a connective tissue factor. By substances which cause increased tissue perfusion (histamine) or in conditions in which this is present (exposure to sunlight, hydraemia due to pregnancy) a more rapid removal of tuberculin can be obtained and the reaction to it can be decreased or abolished. Substances which cause vasoconstriction at the site of injection (adrenaline) may cause a stronger tuberculin reaction by a delayed removal of the tuberculin applied.

We have tried to form an idea of the mechanism of the tuberculin reaction, hoping to gain an insight into the negative course of this reaction in patients with Besnier-Boeck's disease.

In 60-70 % of patients with this affection a negative tuberculin reaction is present. J. JADASSOHN was the first to associate this with tuberculosis and spoke of a positively anergic form of this infectious disease. It would be a form in which the "field" would possess a high degree of immunity attended by a negative tuberculin reaction. Later on various theories have been evolved to explain the frequently negative course of the tuberculin reaction.

a. Mycobacterium tuberculosis has nothing to do with Besnier-Boeck's disease (TURIAF, DANBOLT and others). The fact that a fairly large number of patients with Besnier-Boeck's disease had earlier shown positive tuberculin reactions or roentgenologically demonstrable calcified (primary) tuberculosis, still remains unexplained.

b. The tuberculin is insufficiently bound at the site of injection. With a depot tuberculin test SEEBERG obtained positive tuberculin reactions in 6 of 8 tuberculin-insensitive patients with Besnier-Boeck's disease.

This has been confirmed by JAMES and PEPYS as well as by CITRON. PYKE and SCADDING observed positive tuberculin reactions in patients with Besnier-Boeck's disease treated with cortisone who had previously reacted negatively. CITRON attributes this to inhibition of the removal of tuberculin under the

influence of cortisone. So here the question arises in which way the tuberculin is bound. Then, one also thinks of a possible influence of the early phase of the tuberculin reaction as described by MILES.

With the aid of methylene blue, Evans blue and pontamine blue we were not able to demonstrate a direct form of reacting in the tuberculin reaction in human beings. With these experiments we observed no difference between tuberculin-insensitive patients with Besnier-Boeck's disease, and tuberculin-sensitive and insensitive control persons. On account of this it seems improbable that in patients with Besnier-Boeck's disease the tuberculin reaction would take a negative course due to a disturbance (increased reaction — increased removal) in the early phase (MILES).

It is theoretically possible that in the patient with Besnier-Boeck's disease a missing reaction in the sense of MILES might likewise lead to a more rapid removal of tuberculin and thus to a negative reaction. Some support for this is found in the observations of LOFGREN in his experiments with radioactive BCG. Our dye-tests in tuberculin-sensitive persons do not point in this direction.

c. MARTENSTEIN holds certain substances responsible for the negative tuberculin reaction and calls these "anticutine". WYLIE gives them the name of "tuberculoclastin". In our opinion, we have shown by means of the experiments with methylene blue, Evans blue, and pontamine blue that the more rapid removal of tissue fluid combined with a more rapid removal of tuberculin may be the cause of the occurrence of weakened tuberculin reactions and that no anticutine factor is needed here.

d. Blocking of subfactor (IV-10) alpha globulin by gamma globulin. In the opinion of COLE and FAVOUR this would lead to an intensified early phase (MILES) of the tuberculin reaction combined with a more rapid removal of tuberculin.

e. Tuberculin is in itself no complete antigen. Completion might not occur (LEITNER).

f. The cellular form of allergy is absent in these patients (FRIOU, SONES and ISRAEL, CITRON). This holds good both for tuberculosis and other infectious diseases which are attended by a delayed form of allergy. ISRAEL et. al. were able to produce positive tuberculin reactions in patients with Besnier-Boeck's disease by means of cells originating from tuberculin-sensitive persons. Cells from insensitive Besnier-Boeck patients do not influence the tuberculin reactions in tuberculin-sensitive patients. The cellular mononuclear factor (transferfactor) is evidently absent in patients with Besnier-Boeck's disease.

We believe that the views of ISRAEL et. al. are right: these authors suppose that in Besnier-Boeck's disease the patient has a disturbance in his ability to respond with a delayed allergic reaction.

The result of this is that no positive tuberculin reactions are forthcoming. However, the problem is not solved in this way.

In the tuberculin neutralization test the serum of the patient under examination (donor) is mixed with tuberculin. This mixture is used to perform intracutaneous skin reactions in test persons (receptors). These reactions are compared with a control tuberculin reaction carried out in these receptors. The tuberculin neutralization test can be carried out with a fresh serum-tuberculin mixture. It can also be performed after storing the mixture in the incubator. By this method, described by PICKERT and LOWENSTEIN, substances alleged to weaken or even abolish the action of tuberculin, would be demonstrated in the serum of tuberculin treated tuberculous patients; these substances are the so-called "anticutins". FELLNER demonstrated in the vesicular fluid of strongly positive Mantoux reactions substances which increased the tuberculin reaction, called by him "procutins". According to W. JADASSOHN and MARTENSTEIN both substances occur in the serum of tuberculin-sensitive persons. The anticutins would be thermolabile and the procutins thermostable.

The tuberculin neutralization test has come to be used to demonstrate the tuberculous aetiology of certain affections, e.g., Besnier-Boeck's disease. WELLS and WYLIE especially noticed neutralization with serum from patients with an active form of Besnier-Boeck's disease. Others (LEITNER, RUBIN and PINNER) observed this only exceptionally. In the serum of normal tuberculin sensitive persons SINGER found anticutins in 90 % and PINNER et. al. in 3 %.

Our personal investigations tended to yield more weakened reactions in the tuberculin neutralization tests carried out with serum from patients with Besnier-Boeck's disease than with that from normal persons. Because an increased permeability can be demonstrated with blue dye tests carried out with gamma globulin, this might be due to a more rapid removal of tuberculin and therefore to a non-specific effect.

Intracutaneous BCG vaccination results in a late reaction in tuberculin-insensitive persons. In tuberculin-sensitive persons the reaction after BCG vaccination occurs early. In this reaction the injected tubercle bacilli are bound locally and expelled. Epithelioid cell tubercles may arise in this as well as in the late reaction six weeks after injection. BCG vaccination runs essentially the same course in patients with Besnier-Boeck's disease.

According to SULZBERGER the macroscopic course would be different in patients with Besnier-Boeck's disease due to a more rapid formation of a nodule (after about 5 days). In our personal investigations this phenomenon was likewise observed, but it also occurred in 35 % of normal tuberculin-negative persons.

As in normal tuberculin-insensitive persons the site of injection as a rule possesses a sarcoid structure six weeks after the

intracutaneous living BCG vaccination, these persons do not differ in this respect from patients with Besnier-Boeck's disease. Especially BJØRNSTADT was right in indicating that the time which elapses between the injection and the histological examination of the site of injection is of the utmost importance for the histological picture obtained. The later this examination, the greater the chance of finding a sarcoid structure.

It is striking that eight weeks after the BCG vaccination far less patients have become sensitive to tuberculin and that they lose the tuberculin allergy earlier as compared with normal persons. In our personal investigations into the presence of acid-fast rods at the site of injection six weeks after BCG vaccination, no difference in incidence was found between patients with Besnier-Boeck's disease and normal persons with negative tuberculin reactions. Not a single characteristic difference was found between the course of BCG vaccination in patients with Besnier-Boeck's disease and in normal persons, in contrast to the frequency of turning positive of the subsequent tuberculin reaction.

It is assumed that the late or Mitsuda reaction of the lepromin test in leprosy indicates the resistance against *Mycobacterium leprae* Hansen, while the early or Fernandez reaction indicates the allergy. If Besnier-Boeck's disease were in all patients caused by *Mycobacterium tuberculosis* as infectious aetiological agent, we might, on the basis of para-allergy, also expect a positive Mitsuda reaction. This holds also true when the Mitsuda would be a reaction not characteristic of leprosy, in which the adjuvant principle may play a role.

In our personal investigations the lepromin tests ran parallel with the tuberculin reactions, in tuberculin-sensitive normal persons as well as in patients suffering from tuberculosis. Of the tuberculin-insensitive normal persons two showed a positive Mitsuda reaction. These patients had had BCG vaccine, but had not become sensitive to tuberculin.

Nothing could be seen of a positive late or Mitsuda reaction in the patients with Besnier-Boeck's disease who were insensitive to tuberculin. In tuberculin-sensitive Besnier-Boeck patients positive lepromin reactions were also found (Fernandez or Mitsuda). We did not observe a reversal of the tuberculin reaction after lepromin-tests in tuberculin-insensitive healthy persons and patients with Besnier-Boeck's disease. A reversal of the lepromin test was, however, observed after BCG vaccination.

It is assumed that the Kveim test is of diagnostic value in the active — but not in the inactive — form of Besnier-Boeck's disease. The test is carried out as an intracutaneous skin reaction. The tissue-suspension to be injected is prepared from lymphomata and other tissue originating from a patient with Besnier-Boeck's disease and which shows the histological structure characteristic of this disease. The difficulties involved in the prepa-

ration of an active tissue suspension are manifold. The lymphomata should be obtained from an untreated patient in an active stage of the disease. Guinea-pig tests with this suspension must be negative. Control tests have to be performed in healthy normal persons and especially in patients with pulmonary tuberculosis before this tissue suspension can be used clinically. There upon one has to await whether the course of the tests will be positive in patients with Besnier-Boeck's disease. It appears that this especially occurs in patients with an active form of the disease.

In our personal investigations the tissue suspension for the Kveim test was prepared from lymphomata which met the above-mentioned requirements. The control tests carried out in normal persons and patients suffering from tuberculosis were negative. In judging the Kveim test we deemed histological investigation of the site of injection necessary, just as, e.g., ROGERS and HASERICK. The reaction mechanism might be attributable to an "isomorph-Reizeffect" or to allergy. KVEIM and DANBOLT reject the first as, according to them, there were practically no positive Kveimtests in control experiments. PUTKONEN cites PAGEL who describes the same histological changes in allergic reactions as occur in positive Kveim tests. NELSON combines both possibilities. As a reaction to the tissue suspension injected (exogenous antigen) an endogenous antigen develops, against which antibodies are formed. This is followed by an antigen antibody reaction. An active tissue suspension has to contain solid particles. These must be broken down locally and this takes time. This might be an explanation of the late occurrence of the reaction. ROGERS and HASERICK assume that the pathogenic agent present in the tissue-suspension is bound at the site of injection via an antigen-antibody reaction. As appears from our results we had only few active suspensions. In the active form of Besnier-Boeck's disease more positive (45 %) Kveim tests occurred than in the inactive (20 %). According to the literature, NELSON found positive Kveimtests in 73 % in the active form of the affection and ROGERS and HASERICK in 96 %; not a single one was found positive in the inactive form. We saw no connection with the tuberculin reaction. None of our patients showed perceptible skin changes.

The Middlebrook-Dubos' haemagglutination test was performed in 29 patients. It appeared that the results corresponded with those of a control group of tuberculin-negative students (POND-MAN et. al.). In 19 % of the cases the reaction was positive. The titre was 1/8 and higher. In the literature on tuberculosis considerably higher percentages of positive reactions are to be found. The greatest objection raised against the haemagglutination reaction as a diagnostic means in tuberculosis is the occurrence of high percentages of positive reactions in non-tuberculous patients. Many variations of the haemagglutinative reactions have been described, among which the haemolytic modification is the most important one. When these variant reactions are applied the

problem of the falsely positive reactions still remains. The question which antigens are responsible for the agglutination of the erythrocytes is a matter of controversy. There are indications that polysaccharide fractions of the tubercle bacillus or its culture filtrates are responsible for this. The haemagglutination reaction is of special importance for the study of the antigenic structure of the various fractions obtained from the tubercle bacillus and its culture filtrates.

The value of the reactions described for the diagnosis of Besnier-Boeck's disease will be discussed.

The tuberculin neutralization test is not a method to demonstrate or exclude the tuberculous aetiology of a disease. We believe that the results of our experiments justify the conclusion that the weakening or abolition of the tuberculin reaction of some sera is the consequence of vasodilatation and increased permeability. The experiments with isotonic gamma globulin point in this direction. This results in an increased tissue perfusion and a more rapid removal of tuberculin in the first minutes after tuberculin injection. The practical significance of the tuberculin neutralization test is small, however.

The course of BCG vaccination in patients with Besnier-Boeck's disease is no different from that in normal persons. This also holds true for the histological picture of the reaction papule. However, the fact that in patients with Besnier-Boeck's disease a reversal of the tuberculin reaction occurs only in a small percentage of cases, is of diagnostic significance. This occurred in 17.3 % of our patients. This allergy rapidly disappeared in them. After a year all patients were again insensitive to tuberculin. It should, however, be realized that not all normal persons become sensitive to tuberculin after BCG vaccination.

The lepromin test has no significance for the diagnosis of Besnier-Boeck's disease.

Of the reactions described the Kveim test proves to possess the greatest diagnostic value. The most important reason for this is the observation that falsely positive reactions occur only sporadically in the Kveim test. The negative Kveim test is of no significance. In our investigation, the Kveim test did not satisfy our expectations for clinical use. The Kveim test might be a valuable acquisition in affections which may e.g. be found in mass screening of the population in persons with few or no complaints and in whom an inactive form of Besnier-Boeck's disease is suspected. Unfortunately, the chance of a negative course is great especially in these cases. Compulsory histological investigation of the site of injection six weeks after intracutaneous injection of the tissue suspension is an objection which may be advanced against the Kveim test. If no histological investigation is performed, falsely positive reactions cannot be avoided. The diagnostic value of the Kveim test is therefore restricted. In our investigation

we found positive reactions in 45 % of the patients with an active form and in 20 % with an inactive form of the affection.

For the diagnosis of Besnier-Boeck's disease the negative haemagglutination reaction according to Middlebrook-Dubos is of limited significance. In tuberculosis the reaction is positive in a much higher percentage (50-80 %) than in normal persons. In our investigation the course of the reaction in patients with Besnier-Boeck's disease was positive in the same percentage as in tuberculin-insensitive normal persons (17 %).

A striking feature is a certain uniformity in the course of the Kveim test, BCG vaccination and the lepromintest. When at any rate as regard the Kveim and lepromin tests, these reactions have a positive course.

The most conspicuous fact in these three reactions is that six weeks after intracutaneous injection of the tissue suspension (Kveim test) and bacillary suspension (BCG vaccination and lepromin) a papule is present at the site of injection; this papule may ulcerate.

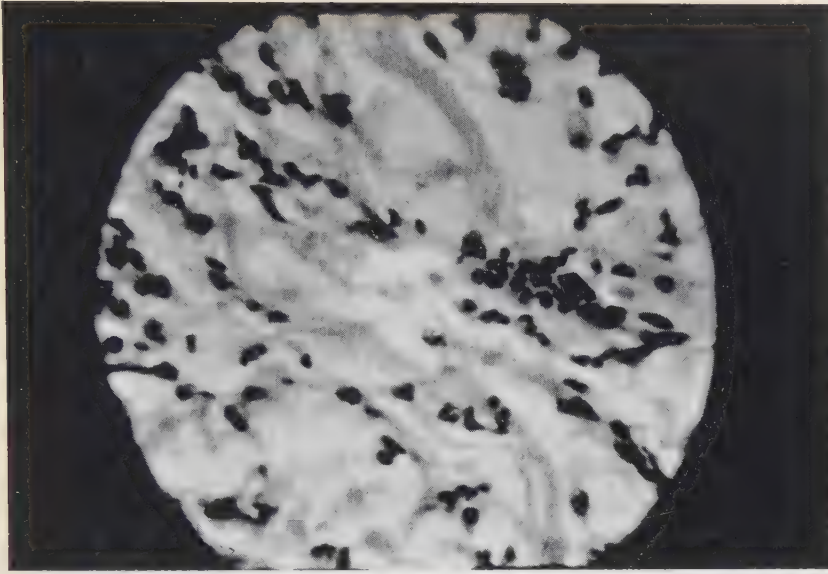
On histological examination all three mostly show a sarcoid structure. In addition to this the Kveim test may show an early reaction occurring in the first days: WILLIAMS and NICKERSON, PUTKONEN, SILZBACH and EHRLICH. The lepromin test may show the early or Fernandez reaction.

Koch's phenomenon arises in the BCG vaccination of persons with a positive tuberculin reaction. This is an accelerated late reaction. A genuine early reaction does not occur in BCG vaccinations. The early lepromin test (Fernandez reaction) is assumed to be an allergic reaction, caused by the proteins of *Mycobacterium leprae*. The analogue of this for the tubercle bacillus is tuberculin.

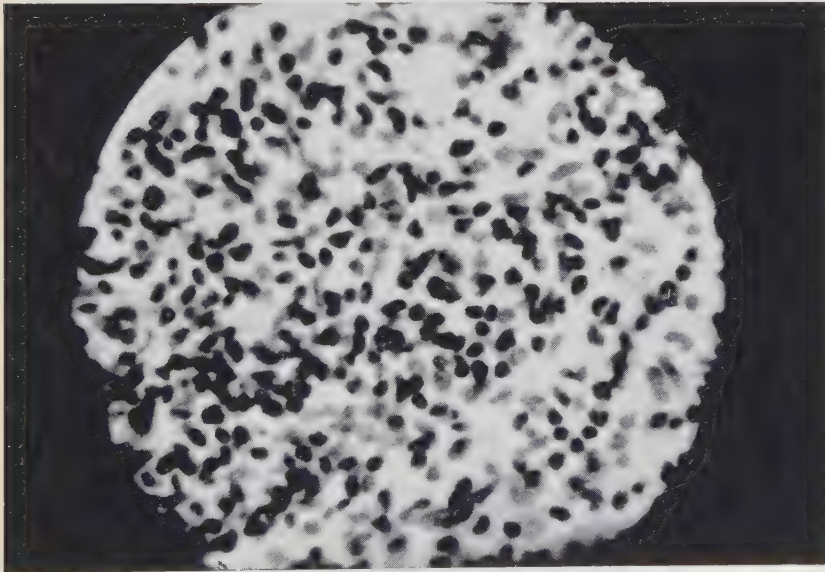
A more profound insight into the problem of tuberculin anergy in Besnier-Boeck's disease was not obtained by our investigations. However, we believe that some arguments may be advanced against J. JADASSOHN's theory, who explained the negative tuberculin reaction by supposing a tuberculous pathogenesis of the disease in which the patient would possess a high degree of immunity with negative tuberculin reactions. The negative course of the Mitsuda reaction as well as the absence of any difference in the disappearance of acid-fast bacilli at the site of BCG vaccination and lepromin test are arguments against this. As we have not been able to demonstrate an early phase of the tuberculin-reaction in human beings with the method as indicated by MILES, nor in tuberculin-insensitive patients with Besnier-Boeck's disease, we are of the opinion that the fact that there is no reversal of the tuberculinreaction after BCG vaccination has to be explained from the inability of the Besnier-Boeck patient to develop a delayed form of allergy.

Conclusions:

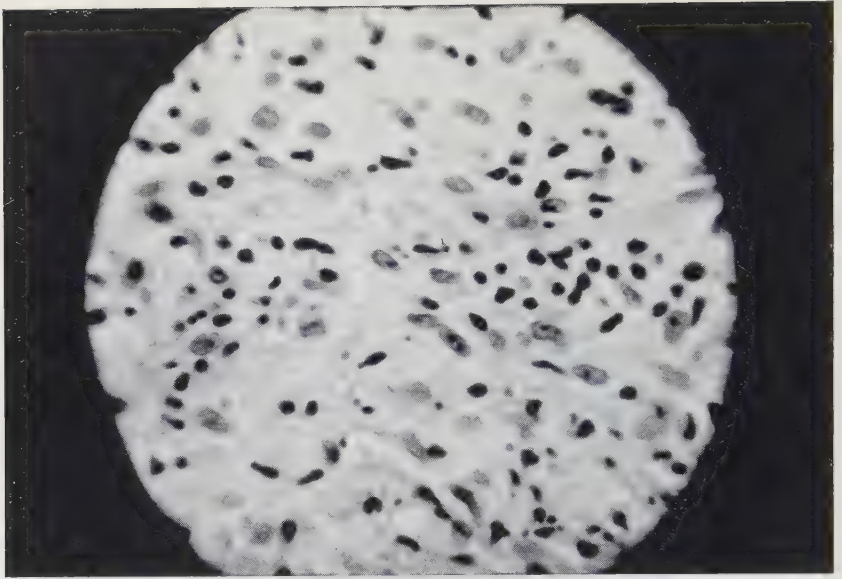
1. The tuberculin neutralization obtained with the serum of patients suffering from Besnier-Boeck's disease is probably based on an aspecific effect. This might be associated with the increased gamma-globulin content of the serum.
2. The percentage of patients with the disease of Besnier-Boeck who become sensitive to tuberculin after intracutaneous BCG-vaccination, is strikingly lower than this percentage in normal tuberculin-insensitive persons.
3. The fact mentioned sub 2 may be explained by the inability of the patient suffering from Besnier-Boeck's disease to develop a delayed form of allergy (ISRAEL et. al.).
4. There is no difference between the local reaction to BCG vaccine or lepromin in tuberculin-insensitive patients suffering from Besnier-Boeck's disease and tuberculin-insensitive normal persons.
5. A positive Kveim test is an important support in establishing the diagnosis of Besnier-Boeck's disease. Many difficulties are however involved in preparing an active tissue suspension necessary to perform this test.
6. The results obtained with the Middlebrook-Dubos reaction in 29 patients suffering from Besnier-Boeck's disease agreed with those obtained in tuberculin-insensitive normal persons.



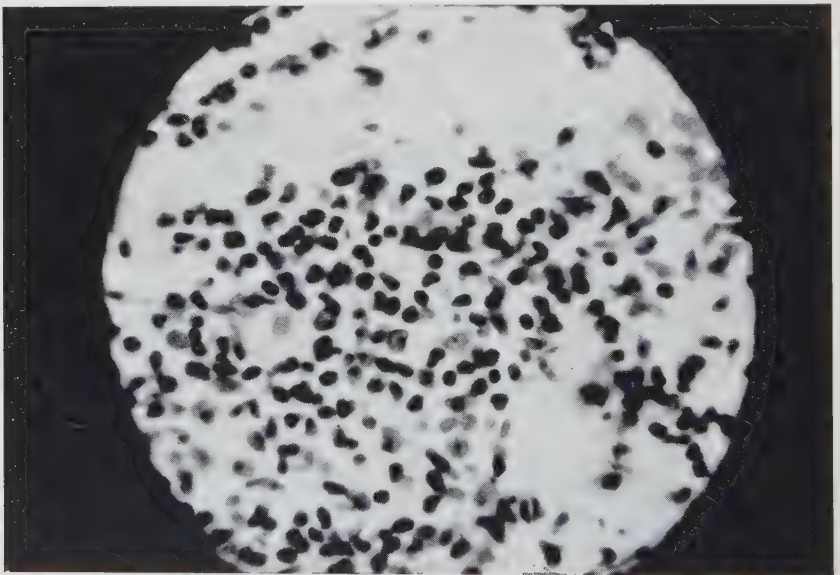
1. Het microscopische beeld van een vroege fase van de tuberculine-reactie (20 minuten).



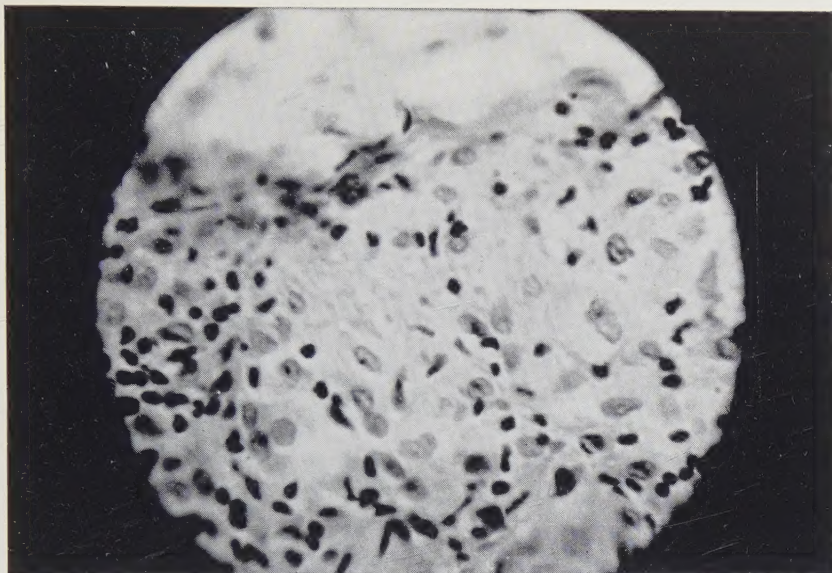
2. Het microscopische beeld van een positieve tuberculine-reactie (na 72 uur).



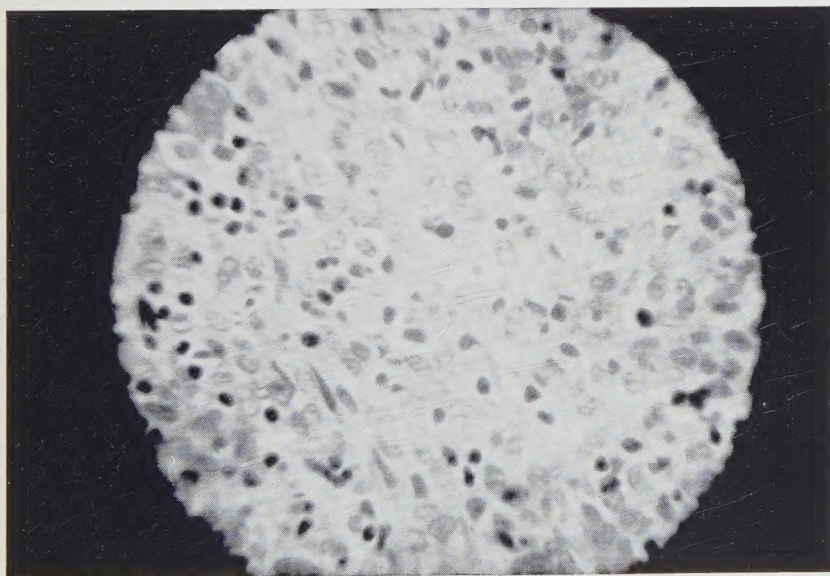
3. Het microscopische beeld van een BCG-reactie, 6 weken na de i.c.-vaccinatie van een tuberculine-ongevoelige patiënt met de ziekte van Besnier-Boeck.



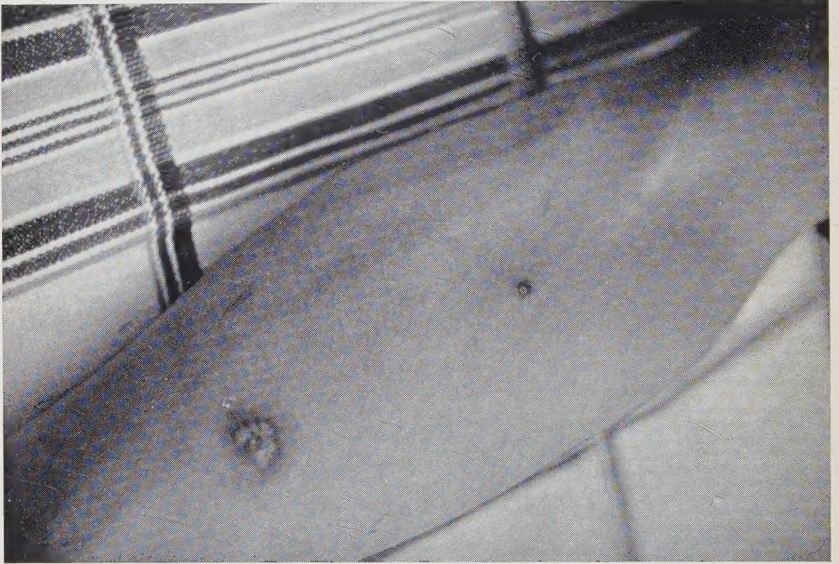
4. Het microscopische beeld van een positieve Fernandez-reactie 72 uur na injectie van het lepromine.



5. Het microscopische beeld van een positieve Mitsuda-reactie 6 weken na injectie van het lepromine.



6. Met microscopische beeld van een positieve Kveim-test, 6 weken na de i.c. injectie van de weësel-suspensie.



7. Het macroscopische beeld van een positieve Kveim-test (boven) en sterk positieve Mitsuda-reactie (beneden) 6 weken oud.

